

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II - Großhadern
der Ludwigs-Maximilians-Universität
München

Direktor Prof. Dr. med. Burkhard Göke

**Untersuchung zur Sensitivität des Tumormarkers
Chromogranin A im Serum bei Patienten mit
neuroendokrinen Tumoren des
GastroEnteroPankreatischen Systems**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Vorgelegt von

Axel Josef Kuttner

aus Ochsenfurt

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Christoph J. Auernhammer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Felix Beuschlein

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 24.11.2011

Meinen Eltern.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Neuroendokrine Tumoren	6
1.2	Chromogranin A (CgA).....	8
1.2.1	Struktur und Funktion	8
1.2.2	CgA als Tumormarker.....	10
1.3	Alkalische Phosphatase (AP).....	12
1.4	5-Hydroxy-Indolessigsäure (5-HIES)	13
1.5	Zielsetzung dieser Arbeit	13
2	Methoden und Material.....	14
2.1	Patienten und Labor-Messwerte	14
2.1.1	Methode zur CgA-Bestimmung.....	14
2.1.2	AP-Bestimmung	15
2.1.3	5-HIES-Bestimmung	15
2.2	Statistik und Datenanalyse.....	16
3	Ergebnisse.....	17
3.1	Patientenkohorte.....	17
3.2	Chromogranin A (CgA).....	18
3.2.1	Sensitivität für CgA in Abhängigkeit des zugrunde gelegten Cutoff-Levels	18
3.2.2	Einfluss der Tumorlast auf CgA	19
3.2.3	Einfluss des Tumorprimarius auf CgA.....	21
3.2.3.1	CgA bei Pankreas-NETs.....	21
3.2.3.2	CgA bei Midgut-NETs.....	25
3.3	Alkalische Phosphatase (AP)	30
3.4	5-Hydroxy-Indolessigsäure (5-HIES)	32

4	Diskussion	35
4.1	Chromogranin A (CgA)	35
4.1.1	Sensitivität und Spezifität für CgA in Abhängigkeit zum verwendeten Cutoff-Level und verwendetem Assay zur Bestimmung	35
4.1.2	Einfluss von Tumorprimarius und Tumorlast auf die CgA-Sensitivität	38
4.2	Alkalische Phosphatase (AP)	46
4.3	5-Hydroxy-Indolessigsäure (5-HIES)	47
5	Zusammenfassung	48
6	Literaturverzeichnis	50
7	Anhang	54
7.1	Danksagung	54

1 Einleitung

1.1 Neuroendokrine Tumoren

Neuroendokrine Tumoren (NETs) sind eine ausgesprochen heterogene Gruppe von Tumoren, die sich häufig im Gastro-Entero-Pankreatischen (GEP) System entwickeln. Insgesamt sind NETs jedoch selten und stellen nur ca. 0,5 -1,0 % aller malignen Erkrankungen dar [1]. Die weltweite Inzidenz beträgt etwa 5 pro 100.000 und Jahr mit einem Häufigkeitsgipfel zwischen dem 40. und 70. Lebensjahr [2, 3]. Besonders die NETs des Jejunum/Ileum und des Pankreas besitzen ein hochmalignes Potenzial und metastasieren häufig in die Leber [4-6]. In etwa einem Drittel der Fälle sind maligne NETs aufgrund der Sezernierung von Polypeptiden mit spezifischer hormoneller Aktivität funktionell aktiv [4, 5]. Das Karzinoidsyndrom tritt bei ca. 10 - 15% der Patienten in Erscheinung. Es wird häufig durch Ausschüttung vasoaktiver Substanzen (Serotonin, Kallikrein) ausgelöst und manifestiert sich in Form von Diarrhoen, Flush-Symptomatik, Endokardfibrose und Asthma bronchiale. Das Karzinoid-Syndrom spricht für eine bereits metastasierte oder primär extraintestinale Lage des endokrinen Tumors. NETs des GastroEnteroPankreatischen (GEP) Systems metastasieren insbesondere in die Leber [7].

Zu Diagnostik, Therapiemonitoring und Tumornachsorge werden Tumormarker wie das Chromogranin A im Serum verwendet [8]. Bei den funktionell aktiven NETs können zusätzlich spezifische Peptidhormone oder biogene Amine, wie beispielsweise Serotonin, im Serum nachgewiesen werden. Als Abbauprodukt des Serotonins wird 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIES) renal ausgeschieden und kann im 24-Stunden-Sammelurin quantitativ bestimmt werden [9, 10]. Als bildgebende Verfahren stehen insbesondere die Magnetresonanztomographie und die Computertomographie sowie die Somatostatinrezeptorszintigraphie und spezielle PET/CT-Verfahren welche ebenfalls auf dem Nachweis von Somatostatinrezeptoren beruhen, zur Verfügung [11]. Bei NETs des Pankreas sowie bei NETs des Magens, Duodenums und Rektums, spielt aufgrund ihrer hohen räumlichen Auflösung auch die Endosonographie eine wichtige Rolle in der Tumordetektion bzw. dem Tumorstaging [12].

Wegen der Heterogenität der verschiedenen Tumorentitäten ist die Behandlung neuroendokriner Tumoren eine interdisziplinäre Aufgabe. Die chirurgische Resektion stellt die Therapie der Wahl dar, da sie als einzig kurative Therapieoption fungieren kann. Bei nicht vollständig resezierbaren Tumoren kann eine operative Reduktion der Tumormasse im Sinne eines Debulking > 90 % der Tumormassen eine palliative Therapiemöglichkeit darstellen [13]. Insbesondere bei Karzinoidsyndromen stehen Somatostatinanaloga zur Symptomkontrolle zur Verfügung [14]. Eine weitere Therapieoption stellt die Biotherapie mit Interferon- α dar. Bei nicht resektablen Lebermetastasen spielt die transarterielle Chemoembolisation (TACE) eine Rolle [9]. Des Weiteren werden Lebermetastasen mittels selektiver interner Radiotherapie (SIRT) behandelt. Das Prinzip der SIRT beruht auf der Kombination einer arteriellen Mikroembolisation mit einer interstitiellen Hochdosis-Strahlentherapie (Radioembolisation). Die SIRT wird sowohl für primäre Lebertumoren als auch zur Behandlung von Lebermetastasen eingesetzt. Zusammenfassend ist zu erwähnen, dass bei disseminiert metastasierten neuroendokrinen Tumoren des GastroEnteroPankreatischen (GEP) Systems eine kurative Behandlung in aller Regel nicht möglich ist. NETs zeigen besondere Wachstumseigenschaften mit einer spezifischen Tumorkinetik und einer meist eher langsamen Proliferationsrate der hochdifferenzierten G1 NET [15, 16]. Bei Patienten mit einem lokalisierten, noch nicht fernmetastasierten NET, ergibt sich eine mittlere 5-Jahres-Überlebensrate von nahezu 100 %, wohingegen bei vorliegenden Metastasen die mittlere 5-Jahres-Überlebensrate bei nur mehr 30 - 60 % liegt [17]. Die Überlebenszeit ist außerdem abhängig vom Differenzierungsgrad des NET. So zeigten sich in einer Studie von Yao et al. bei Patienten mit G1 (gut differenziert) bzw. G2 (mässig differenziert) NETs Überlebenszeiten von 124 bzw. 64 Monaten. Für Patienten mit G3 (gering differenzierten) neuroendokrinen Karzinomen ergaben sich dagegen mittlere Überlebenszeiten von lediglich 10 Monaten [3].

1.2 Chromogranin A (CgA)

1.2.1 Struktur und Funktion

Chromogranin A (CgA) gehört zur Familie der Sekretogranine und ist ein saures, hitzebeständiges, hydrophiles Glykoprotein bestehend aus ≈ 460 Aminosäuren und einer molekularen Masse von $\approx 70 - 85$ kDa, welches in den sekretorischen Dens-Core-Granula der meisten normalen und neoplastischen neuroendokrinen Zelltypen exprimiert und zusammen mit Peptidhormonen freigesetzt wird (*Abbildung 1*) [18-20]. CgA und seine Derivate, z. B. Pankreastatin, Catestatin und Vasostatin I und II, haben im Organismus eine Reihe von Auswirkungen. Hierzu gehören die Beeinflussung der Katecholaminfreisetzung, der endokrinen und exokrinen Pankreasfunktionen, des kardiovaskulären Systems, der Nebenschilddrüsen, der Adipozyten sowie des Immunsystems (*Tabelle 1*) [20]. Erhöhte CgA-Serum- oder Plasmaspiegel konnten bei Patienten mit verschiedenen hormonell aktiven sowie hormonell inaktiven NETs gefunden werden [21-24].

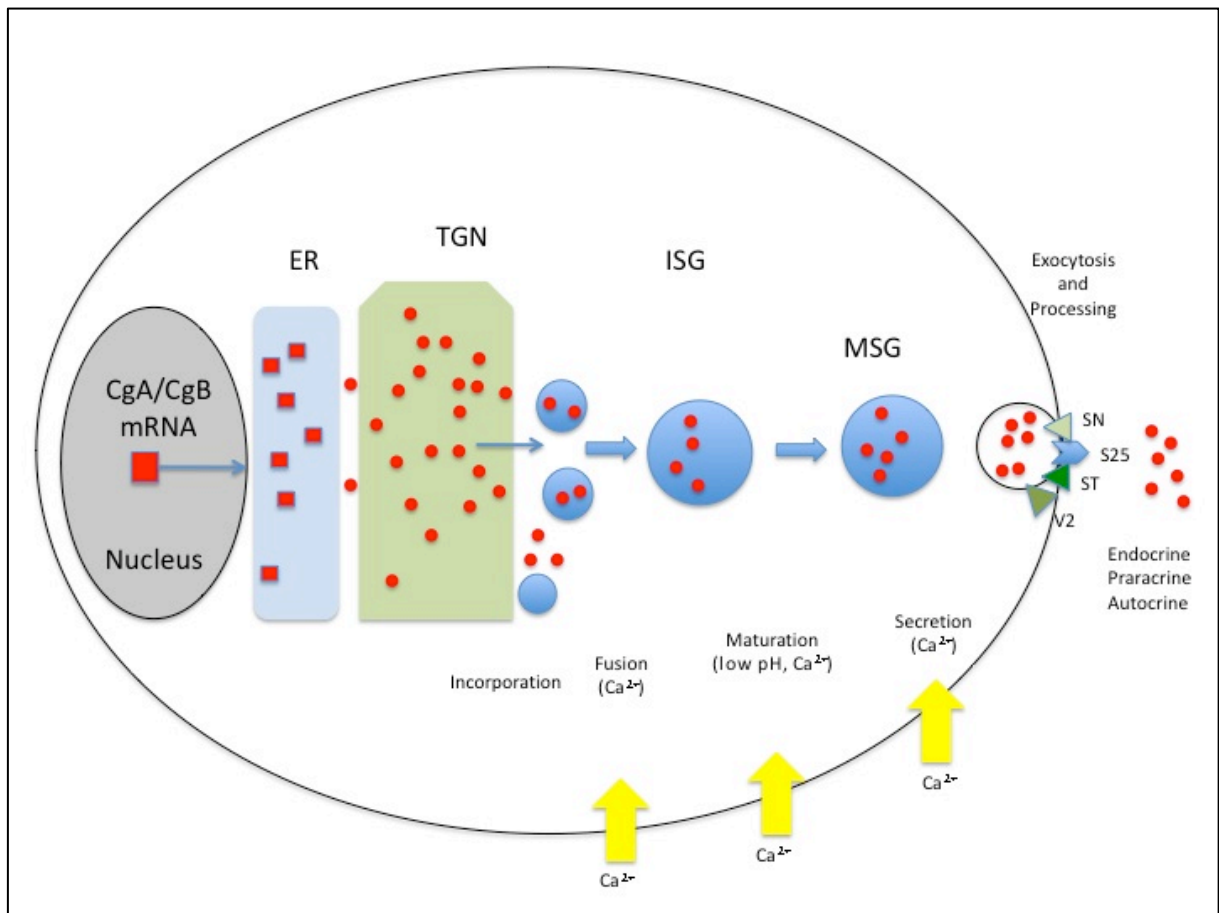


Abbildung 1: Chromogranin A (CgA) und Chromogranin B (CgB) Granulogenese und Serzernierung, adaptiert nach [20]

CgA/B werden im Nucleus und im Endoplasmatischen Retikulum (ER) transkribiert und prozessiert. Nach dem ER akkumulieren sie im *trans*-Golgi Netzwerk (TGN). Sie werden dann in unreife Vesikel aufgenommen, in welchen sich auch andere für die unreifen Vesikel (immature secretory vesicles; ISG) bestimmten Proteine befinden. Die ISG reifen unter dem Einfluss von Calcium (Ca^{2+}), Abfall des pH-Wertes der Granula, Prohormonprozessierung und der Aufnahme von Aminen (z. B. Serotonin) zu mature secretory granules (MSG). Die MSG gelangen zur Plasmamembran und docken nach rezeptorvermitteltem Ca^{2+} -Einstrom dort an. Für den Andock-Prozess sind eine Reihe weiterer Proteine nötig [z. B. Syntaxin (SY), Synaptotagmin (ST), VAMP2 (V2) und SNAP25 (S25)]. Nach dem Andockvorgang geben die MSG ihren Inhalt an den Extrazellulärraum ab wo die Proteine ihre biologische Wirkung entfalten. Auch extrazellulär werden die Proteine weiter prozessiert (z. B. CgA \rightarrow Catestatin, unter dem Einfluss von Serumplasminogen).[20]

	CgA
Nebenniere	- Catecholaminausschüttung ↓
Pankreas	- Insulin ↓ - Glucagon ↑ - Amylase ↑
Reproduktion	- Autokrine Wirkung auf LH/FSH-Sekretion
Cardiovaskulär	- Vasodilatation ↑ - Vasokonstriktion ↓ (Suppression v. Endothelin-1) - Dysfunktion der Endothelbarriere v. Arterien ↓ - Negativ inotrop am Myocard
Nebenschilddrüse	- PTH
Adipozyten	- Glucoseverbrauch und Glucosetransport ↓ - Leptinsekretion ↓
Immunsystem	- Antimikrobiell (Pilze, Bakterien)

Tabelle 1: Physiologische Interaktionen von CgA, adaptiert nach [20]

1.2.2 CgA als Tumormarker

CgA im Serum wird als sensitiver Tumormarker für NETs empfohlen [18, 21, 23, 25, 26]. Die CgA-Sensitivität hängt ab von dem verwendeten Assay zur Serum- oder Plasma-CgA-Bestimmung [27-29], von der zugrunde gelegten oberen Normwertgrenze [28, 29], von der Lokalisation des NET-Primarius [30, 31] sowie von der Ausbreitung der Erkrankung – und hierbei vor allem von der Existenz von Lebermetastasen [21, 29, 32, 33].

CgA korreliert mit der Tumorlast und ist ein Faktor für eine schlechte Prognose bei Midgut und Pankreas NETs [21, 32-37]. Janson et al. untersuchten den Einfluss von Alter und Lebermetastasen auf das Überleben von Patienten mit Karzinoid Tumoren (Foregut, Midgut, Hindgut), wobei auch verschiedene Tumormarker untersucht wurden. Es konnte in einer multivariaten Studie gezeigt werden, dass ein höheres Alter und CgA-Spiegel > 5000 ng/ml die einzigen unabhängigen Prognosewerte für eine schlechte Prognose sind [34]. Korse et al. entdeckten mittels der Cox-Regressionsanalyse eine signifikante Korrelation zwischen CgA-Werten und der Health-Related Quality of Life (HRQoL) sowie der Überlebenszeit von Patienten mit

metastasierten gastrointestinalen NETs. Des Weiteren scheint CgA ein guter Wert zur Therapiekontrolle von Midgut und Pankreas NETs zu sein [25, 31, 32, 35].

In einer unlängst veröffentlichten Studie wurde gezeigt, dass CgA der beste und sensitivste Frühtumormarker für Rezidive bei Patienten mit radikal operierten NET des Midgut ist [38, 39]. Für erhöhte CgA-Werte gibt es allerdings auch eine Reihe unspezifischer Gründe wie z. B. arterielle Hypertonie, Niereninsuffizienz, Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren (PPI) etc. (*Tabelle 2*) [20]. Obwohl es somit unspezifische Gründe für einen erhöhten CgA-Wert, wie z. B. Medikation mit Protonen-Pumpen-Inhibitoren (PPI), H2-Rezeptorantagonisten [20, 40] oder atrophische Gastritis [20, 41] gibt, kann ein Anstieg des CgA-Basiswertes über einen längeren Zeitraum hinweg, auch unter o.g. Konditionen, ein Hinweis auf ein Tumorrezidiv sein [37, 39].

	CgA
Endokrine Erkrankungen	<ul style="list-style-type: none"> - Pheochromozytom - Hyperparathyreose - Medulläres Schilddrüsen-Ca - Hyperthyreose
Medikamente	<ul style="list-style-type: none"> - PPI - H2Ras
Cardiovaskuläres System	<ul style="list-style-type: none"> - Arterielle Hypertonie - Herzinsuffizienz - Akutes Koronarsyndrom - Riesenzellarteriitis
GI-System	<ul style="list-style-type: none"> - Chronisch atrophische Gastritis - Pankreatitis - Leberzirrhose - Chronische Hepatitis - Colon-Ca - HCC - Adeno-Ca des Pankreas
Entzündliche Erkrankungen	<ul style="list-style-type: none"> - System. rheumatoide Arthritis - SIRS - Chronische Bronchitis
Nierenfunktionsstörungen	<ul style="list-style-type: none"> - Niereninsuffizienz
andere Carcinome	<ul style="list-style-type: none"> - Kleinzelliges Bronchial-Ca - Prostata-Ca - Mamma-Ca - Ovarial-Ca

Tabelle 2: Gründe für einen erhöhten CgA-Plasma-Spiegel, adaptiert nach [20]

1.3 Alkalische Phosphatase (AP)

Clancy et al. [42] konnten in einer multivariaten Studie keine signifikante Korrelation zwischen CgA-Serumspiegeln und Langzeitüberleben finden. In einer univariaten Studie jedoch konnte eine solche Korrelation nachgewiesen werden. Dagegen wurde in einer uni- und multivariaten Analyse gezeigt, dass erhöhte Serumwerte der alkalischen Phosphatase (AP) bei Patienten mit NETs mit einer kürzeren Überlebenszeit assoziiert sind. So wurde postuliert, dass eine erhöhte AP als ungünstiger prognostischer Faktor bei Patienten mit metastasierten neuroendokrinen

Tumoren gesehen werden kann. Clancy et al. beurteilten die AP im Vergleich mit CgA als den besseren Prognosewert für das Überleben von NET-Patienten [42].

1.4 5-Hydroxy-Indolessigsäure (5-HIES)

Ein weiterer bekannter Tumormarker zur Diagnose und Therapieüberwachung für Midgut NETs ist die im 24-Stunden-Sammelurin gemessene 5-Hydroxy-Indolessigsäure (5-HIES). Hierbei handelt es sich um ein Abbauprodukt von Serotonin welches häufig von Midgut NETs sezerniert wird [9].

In einer jüngst veröffentlichten Studie beschrieben Korse et al. mittels der Cox-Regressionsanalyse eine signifikante Korrelation zwischen CgA-Spiegeln und der Health-Related Quality of Life (HRQoL) von Patienten mit metastasierten gastrointestinalen NETs sowie der Überlebenszeit. Wohingegen keine signifikante Korrelation zwischen der Health-Related Quality of Life (HRQoL) der Patienten und den gemessenen Werten für 5-HIES sichtbar war. Ebenso konnte keine Verbindung zwischen den im 24-Stunden-Sammelurin gemessenen 5-HIES Werten und dem Überleben geknüpft werden [36].

1.5 Zielsetzung dieser Arbeit

In dieser Arbeit zeige ich die Erfahrungen, die in einer retrospektiven Fallserie von Patienten der Medizinischen Klinik II, Campus Großhadern, Uniklinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München gemacht wurden.

Das Ziel war, die Sensitivität von CgA in Abhängigkeit der Tumorlokalisation des Primarius ebenso wie in Abhängigkeit der Metastasierung der Tumorerkrankung zu zeigen. Als tertiäres Zentrum analysierten wir vor allem Patienten im bereits fernmetastasierten Stadium. Der Stellenwert der Alkalischen Phosphatase und der 5-HIES als Tumormarker und ihre Korrelation mit CgA wurden ebenfalls untersucht.

2 Methoden und Material

2.1 Patienten und Labor-Messwerte

In einer unizentrischen, retrospektiven Studie wurden die zwischen den Jahren 2000 und 2009 bei insgesamt 110 Patienten (47 Frauen und 63 Männern) mit der histologisch gesicherten Diagnose eines NET des Midgut oder des Pankreas in der Routinediagnostik durchgeführten Bestimmungen von CgA und AP im Blut sowie von 5-HIES im 24-Stunden-Sammelurin analysiert. In den meisten Fällen wurden für jeden Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten wiederholt Messwertbestimmungen durchgeführt, wodurch sich eine Gesamtanzahl aus Messwerten von 692 Messungen des CgA, 1564 Messungen der AP sowie 188 Messungen der 5-HIES ergab. Die Messungen wurden alle im Institut für Klinische Chemie der Ludwig-Maximilian-Universität München, Klinikum Großhadern, durchgeführt. Die retrospektive Auswertung der Daten erfolgte nach Genehmigung der Ethikkommission der Ludwig-Maximilian-Universität München.

2.1.1 Methode zur CgA-Bestimmung

Zur CgA-Bestimmung wurde ein kommerziell verfügbarer immunoradiometrischer Assay (IRMA; CIS BioInternational S.A.S., Gif-sur-Yvette, Frankreich) verwendet [Interassay Coefficient of Variation (CV): 2,4 % (Durchschnittskonzentration 172 ng/mL)]. Zur Detektion von CgA im Plasma verwendet der CIS Bio Kit zwei monoklonale Antikörper welche sich gegen die Aminosäuresequenzen 145 – 197 und 198 – 245 der zentralen, nicht-prozessierten Domäne des Proteins richten. Es handelt sich also um einen „Sandwich-Assay“ welcher zur Detektion von CgA die Anwesenheit beider Aminosäurebindungssequenzen voraussetzt (*Abbildung 2*).

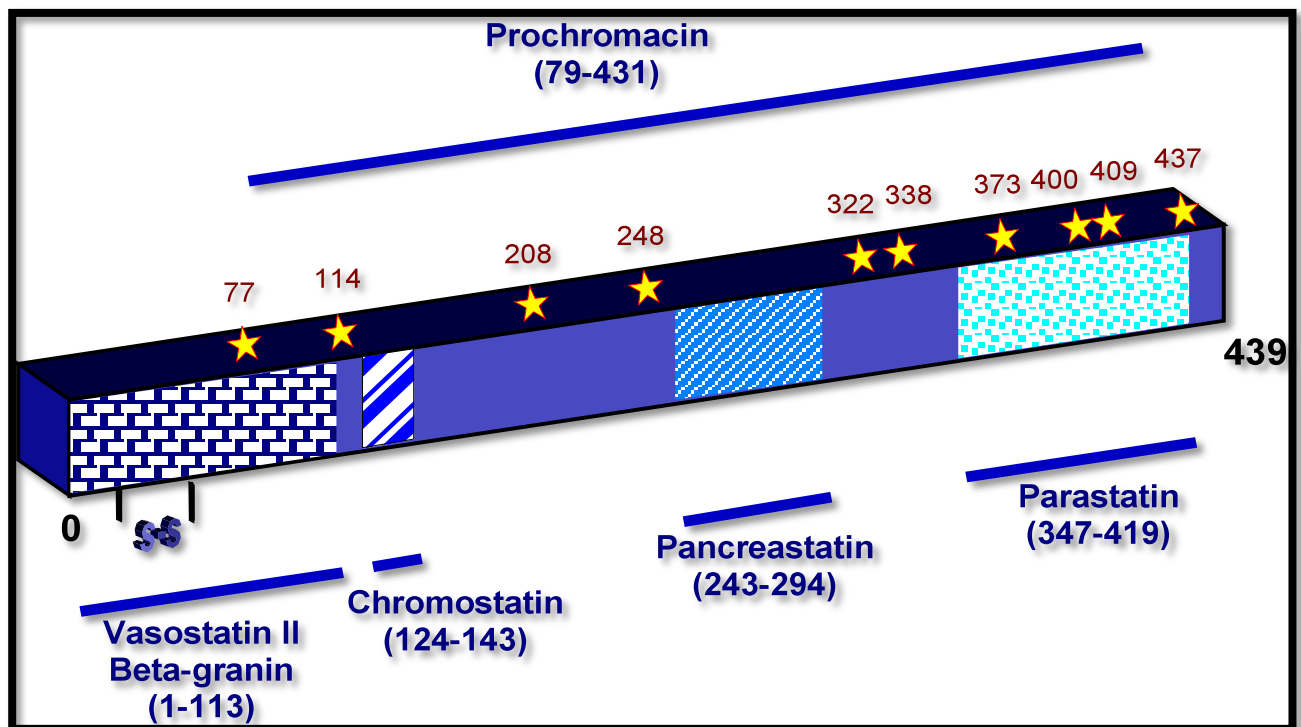


Abbildung 2: Struktur von Chromogranin und seinen durch Endopeptidasen hieraus prozessierten Peptiden. Zur Detektion von CgA im Plasma verwendet der CIS Bio Kit zwei monoklonale Antikörper welche sich gegen die Aminosäuresequenzen 145 – 197 und 198 – 245 der zentralen, nicht-prozessierten Domäne des Proteins richten. Zur Verfügung gestellt von Cisbio Bioassays, www.ria-cis.com

2.1.2 AP-Bestimmung

Zur Bestimmung der AP wurde ein photometrisches Messgerät genutzt [Olympus, Hamburg, Deutschland; Interassay Coefficient of Variation (CV): : 4,4 % (Durchschnittskonzentration 55 U/L)].

2.1.3 5-HIES-Bestimmung

Die Konzentrationen der 5-HIES im Urin wurden mit einem kommerziell verfügbaren Assay-Kit durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit elektrochemischen Detektor (HPLC-ECD) [Chromosystems, München, Deutschland;

Interassay Coefficient of Variation (CV):: 4,4 % (Durchschnittskonzentration 3,1 mg/L)] ermittelt.

2.2 Statistik und Datenanalyse

Wir ermittelten die Sensitivität der verschiedenen Tumormarker, indem wir zunächst die Mediane aller gesammelten Werte jedes Patienten berechneten. Alle Patienten, deren Median-Wert über dem von der klinischen Chemie festgelegten Referenzwert lag, wurden als „positiv“ gewertet und gezählt, die Zahl der positiven Patienten wurde dann ins Verhältnis zu der Gesamtanzahl der jeweiligen Gruppe gesetzt (Pankreas/Midgut).

Um die verschiedenen Subgruppen von Patienten zu vergleichen, wurden der Mann-Whitney-Test sowie die Spearmans Rangkorrelationskoeffizient verwendet. Zum einen wurden Korrelationen von AP/CgA-Datenpaaren einzelner Patienten errechnet, zum anderen wurden Korrelationskoeffizienten für die verschiedenen Messungen für das jeweilige Individuum berechnet wie von Bland [43] beschrieben.

$P \leq 0,05$ wurde als „signifikant“ betrachtet, $p \leq 0,01$ als „hoch signifikant“. In Bezug auf den explorativen Charakter dieser Arbeit, sind alle p-Werte beschreibend zu interpretieren.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkohorte

Die Studienpopulation umfasst 110 Patienten, 47 Frauen und 63 Männer. 48 von den 110 Patienten hatten einen Pankreas-NET, bei den anderen 62 Patienten war ein Midgut (Jejunum/Ileum) NET diagnostiziert worden.

Das Durchschnittsalter der gesamten Patientenkohorte lag bei 61 ± 12 Jahren (zwischen 30 und 88 Jahren), bei der Gruppe der Pankreas-NETs lag das Durchschnittsalter bei 58 ± 11 Jahren (zwischen 31 und 88 Jahren), bei der Midgut-NET-Gruppe ergab sich ein Durchschnittsalter von 63 ± 12 Jahren (zwischen 30 und 87 Jahren) (Tabelle 3).

	weiblich	männlich	Gesamt	Ø-Alter
Pankreas-NET	19	29	48	$58 \pm 11,14$ Jahre
Midgut-NET	28	34	62	$63 \pm 12,41$ Jahre
Gesamt	47	63	110	$61 \pm 12,06$ Jahre

Tabelle 3: Studienpopulation der Arbeit

Bei nur 19 von den 110 Patienten (17 %) zeigte sich eine lokal beschränkte Erkrankung, wohingegen bei 91 von 110 Patienten (83 %) Metastasen z. B. Lymphknoten-, Knochen-, Lungen- oder peritoneale Metastasen vorlagen. Lebermetastasen zum Diagnosezeitpunkt wurden bei 82 von 110 Patienten (75 %) gefunden, während nur bei 9 von 91 Patienten mit bekannten Metastasen keine Lebermetastasen bekannt waren. Von diesen 9 Patienten hatten 7 Patienten lediglich Lymphknotenmetastasen, ein Patient hatte ausschließlich Lungenmetastasen und ein weiterer Patient zeigte Lungen- und Lymphknotenmetastasen.

53 der 82 Patienten mit Lebermetastasen hatten zum Diagnosezeitpunkt entweder nur Lebermetastasen oder Leber- und Lymphknotenmetastasen. Bei 29 der 82 Patienten mit Lebermetastasen traten neben den Leber- und

Lymphknotenmetastasen zusätzlich Knochen-, Lungen- oder Peritonealmetastasen auf (im Folgenden als extrahepatische Metastasierung bezeichnet).

In der Pankreas-Gruppe lagen bei 21 % der Patienten keine Metastasen vor, wohingegen bei 79 % Lokal- und/oder Fernmetastasierung auftrat. 73 % der Patienten hatten Lebermetastasen.

In der Midgut-Gruppe lagen bei 15 % der Patienten keine Metastasen vor, bei 85 % traten Lokal- und/oder Fernmetastasen auf, 76 % der Patienten wiesen Lebermetastasen auf (Tabelle 4).

Verteilung der Metastasen (N = Anzahl der Patienten)	keine Metast.	nur Lymphknotenmetast.	nur Lungenmetast.	nur Lungen- und Lymphknotenmetast.	Lebermetast. (± Lymphknoten)	Lebermetast. und zusätzl. Knochen-, Peritoneum- oder Lungenmetast.
Pancreatic NETs (N=48)	N=10	N=2	N=1		N=25	N=10
Midgut NETs (N=62)	N=9	N=5		N=1	N=28	N=19
Summe	N=19	N=7	N=1	N=1	N=53	N=29

Tabelle 4: Auftreten und Verteilung von Metastasen in der Studienpopulation.
Metast. = Metastasen

3.2 Chromogranin A (CgA)

3.2.1 Sensitivität für CgA in Abhängigkeit des zugrunde gelegten Cutoff-Levels

Von allen Patienten mit gastroenteropankreatischen NETs lagen bei nur 68 von 110 Patienten die medianen CgA-Werte oberhalb des Cutoff-Levels von 98 ng/ml, woraus sich eine Gesamtsensitivität für CgA als Tumormarker von 62 % ergab. Wie erwartet, errechnete sich bei Verwendung eines niedrigeren Cutoff-Levels von 70

ng/ml bzw. 53 ng/ml - wie jeweils von Ferrari et al. [27] bzw. von Zatelli et al. [29] vorgeschlagen - eine höhere Gesamtsensitivität von 73 % bzw. von 83 %.

3.2.2 Einfluss der Tumorlast auf CgA

Arnold et al. [37] berichteten, daß die hepatische Tumorlast einen hohen Einfluss auf die gemessenen CgA-Werte habe, jedoch zusätzliche extrahepatische Tumorlast die CgA-Werte nicht wesentlich beeinflusse. Ähnliches beschrieben Zatelli et al. [29], die signifikant höhere CgA-Werte bei NET-Patienten die ausschließlich Lebermetastasen hatten feststellten, als bei Patienten mit Lebermetastasen und weiteren Metastaseherden. Deswegen prüften wir Unterschiede für CgA-Werte bei Patienten mit Lebermetastasen bzw. ohne Lebermetastasen. Darüber hinaus untersuchten wir auch, ob es Unterschiede bei Patienten gibt, die nur Lebermetastasen (und Lymphknotenmetastasen) aufwiesen oder bei denen zusätzlich eine extrahepatische Metastasierung vorlag.

In unserer Studienkohorte zeigten 82 von 110 Patienten (75 %) mit gastroenteropankreatischen NETs Lebermetastasen zum Zeitpunkt der Diagnose. Es lagen signifikant höhere mediane CgA-Werte bei von Lebermetastasen betroffenen NET-Patienten vor, als bei denen ohne hepatische Metastasierung (*Abbildung 3*).

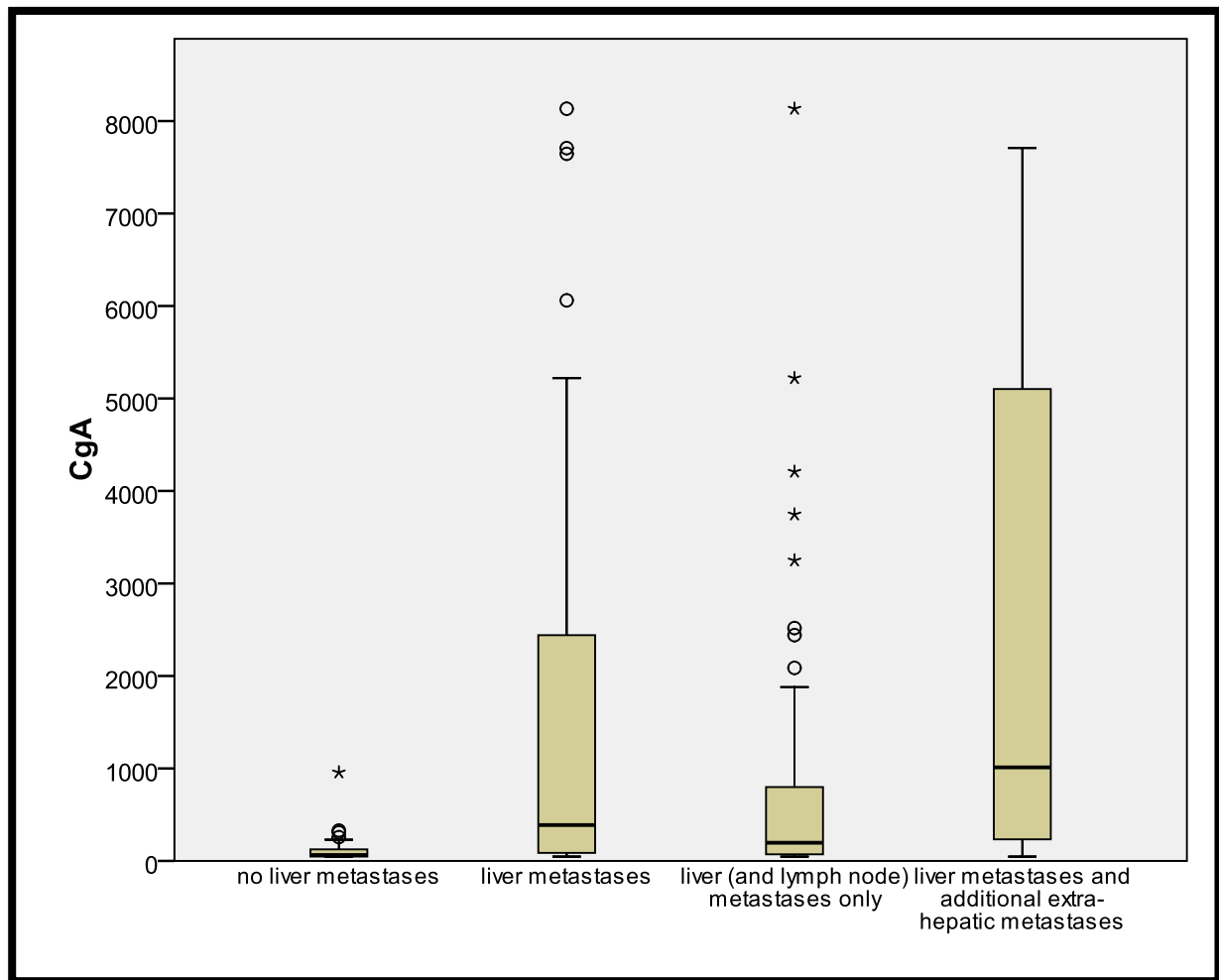


Abbildung 3: Box plots der medianen CgA-Plasma-Spiegel (CgA in ng/ml), für die untersuchten 110 Patienten (Pankreas- und Midgut-NETs). Unterteilt in Patienten ohne Lebermetastasen, Patienten mit Lebermetastasen, Patienten mit Lebermetastasen (+ Lymphknotenmetastasen) und Patienten mit hepatischer und zusätzlich extrahepatischer Metastasierung.

Außerdem zeigten sich signifikant höhere mediane CgA-Werte bei Patienten mit Lebermetastasen und zusätzlicher extrahepatischer Metastasierung (n = 29) als bei Patienten, die ausschließlich Lebermetastasen (und Lymphknotenmetastasen) (n = 53) aufwiesen.

3.2.3 Einfluss des Tumorprimarius auf CgA

Des Weiteren unterteilten wir unser Patientenkollektiv in Patienten mit Pankreas-NETs und Patienten mit Midgut-NETs um Unterschiede der CgA-Sensitivität in Abhängigkeit des Tumorprimarius zu erkennen.

3.2.3.1 CgA bei Pankreas-NETs

Von den 48 Patienten mit Pankreas-NET, wiesen 26 Patienten mediane CgA-Werte oberhalb des Referenzwertes (> 98 ng/ml) auf, woraus sich eine allgemeine CgA-Sensitivität von 54 % für die Pankreas-Gruppe ergab (*Abbildung 4A*). Bei Verwendung des von Ferrari et al. [27] bei 70 ng/ml festgelegten Cutoff-Levels, konnte eine höhere Sensitivität von 65 % für die Pankreas-NET-Gruppe errechnet werden. Eine sogar noch höhere Sensitivität von 79 % konnten wir durch Verwendung des von Zatelli et al. [29] genannten niedrigeren Cutoff-Levels von 53 ng/ml erreichen.

Die Auswertung der Untergruppen der Pankreas-NET-Gruppe zeigten bei 22 von 35 Patienten mit Lebermetastasen erhöhte mediane CgA-Werte. Wohingegen bei lediglich 4 von 13 Patienten ohne Lebermetastasen erhöhte mediane CgA-Werte vorlagen. Somit ergibt sich eine Sensitivität für Pankreas-NETs mit Lebermetastasen von 63 % im Gegensatz zu einer Sensitivität von nur 31 % bei Patienten ohne Lebermetastasen (*Abbildung 4B*). Bei Verwendung der niedrigeren Cutoff-Level von 70 bzw. 53 ng/ml [27, 29] ergaben sich höhere Sensitivitäten von 74 % bzw. 86 % in der Pankreas-NET-Gruppe mit Lebermetastasen, und ebenfalls höhere Sensitivitäten von 39 % bzw. 62 % für die Pankreas-NET-Gruppe ohne Lebermetastasen.

Die *Tabellen 5A und 5B* zeigen die Sensitivitäten für CgA in Abhängigkeit des Tumorprimarius, der Metastasierung und des zugrunde gelegten Cutoff-Levels.

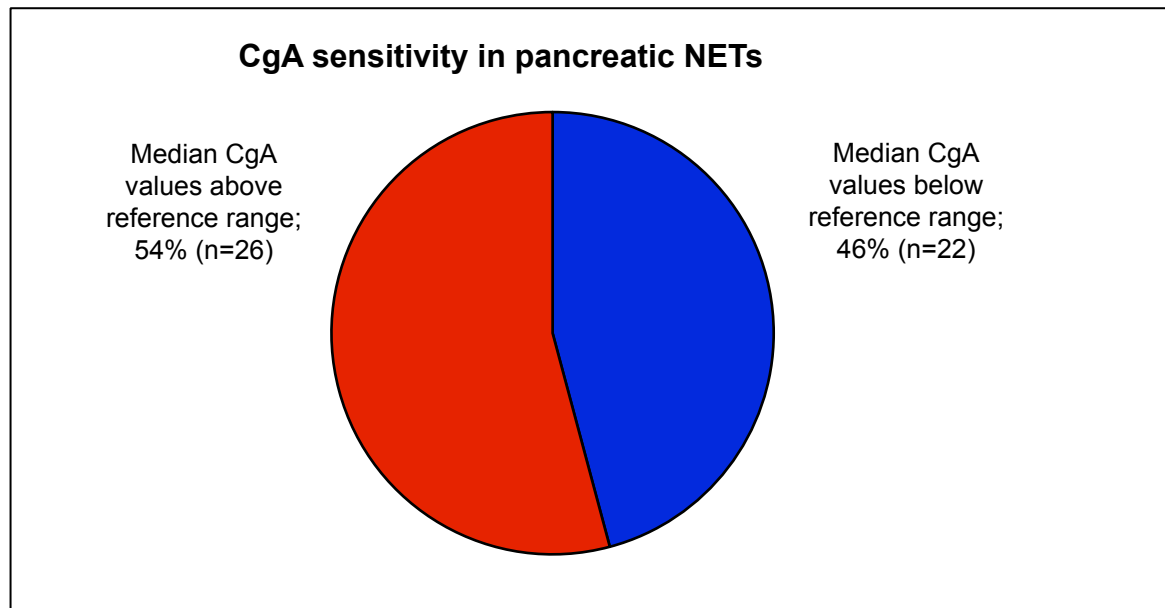


Abbildung 4A: CgA-Sensitivität bei NETs des Pankreas

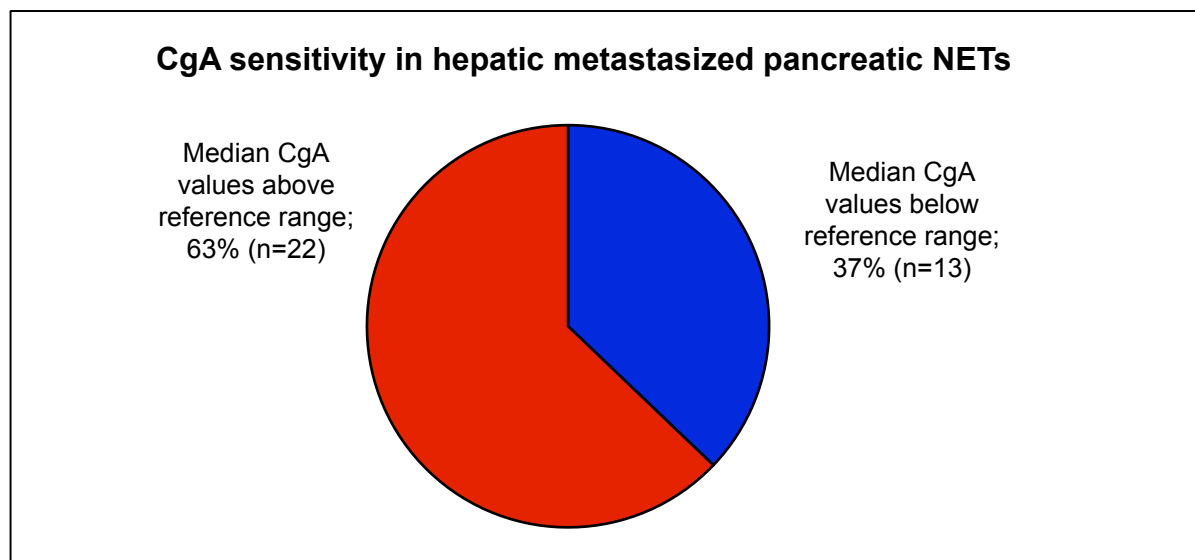


Abbildung 4B: CgA-Sensitivität bei Pankreas NETs mit Lebermetastasen

Sensitivity of CgA	No liver metastases	Liver metastases
Pancreatic NETs (N=48) CgA Cutoff level [ng/ml]: 98	4/13 (31%)	22/35 (63%)
Pancreatic NETs (N=48) CgA Cutoff level [ng/ml]: 70	5/13 (39%)	26/35 (74%)
Pancreatic NETs (N=48) CgA Cutoff level [ng/ml]: 53	8/13 (62%)	30/35 (86%)
Midgut NETs (N=62) CgA Cutoff level [ng/ml]: 98	6/15 (40%)	36/47 (77 %)
Midgut NETs (N=62) CgA Cutoff level [ng/ml]: 70	8/15 (53%)	41/47 (87%)
Midgut NETs (N=62) CgA Cutoff level [ng/ml]: 53	9/15 (60%)	44/47 (94%)

Tabelle 5A: Sensitivitäten für CgA in Abhängigkeit des Tumorprimarius, des Vorhandenseins von Lebermetastasen und dem zugrunde gelegten Cutoff-Level.

CgA Sensitivität CgA Cutoff level [ng/ml]: 98	keine Metast.	nur Lymphknotenmetast.	nur Lungenmetast.	nur Lungen- und Lymphknotenmetast.	Lebermetast. (± Lymphknoten)	Lebermetast. und zusätzl. Knochen-, Peritoneum- oder Lungenmetast.
Pancreatic NETs (N=48)	3/10 (30%)	1/2 (50%)	0/1 (0%)		15/25 (60%)	7/10 (70%)
Midgut NETs (N=62)	3/9 (33%)	2/5 (40%)		1/1 (100%)	20/28 (71%)	16/19 (84%)

Tabelle 5B: Sensitivitäten für CgA in Abhängigkeit des Tumorprimarius und der Metastasierung.

Zusätzlich verglichen wir die medianen CgA-Werte über dem Referenzwert von Pankreas-NET Patienten ohne Lebermetastasen (n = 4; Median ± Standardabweichung: 236 ± 387 ng/ml; Range: 125 ng/ml – 925 ng/ml) mit den medianen CgA-Werten von Patienten der Pankreas-Subgruppe mit Lebermetastasen (n = 22; Median ± Standardabweichung: 593 ± 6573 ng/ml; Range: 132 ng/ml – 22642

ng/ml). Im Mann-Whitney-Test ($p = 0,177$) konnte kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Subgruppen gefunden werden (Abbildung 5).

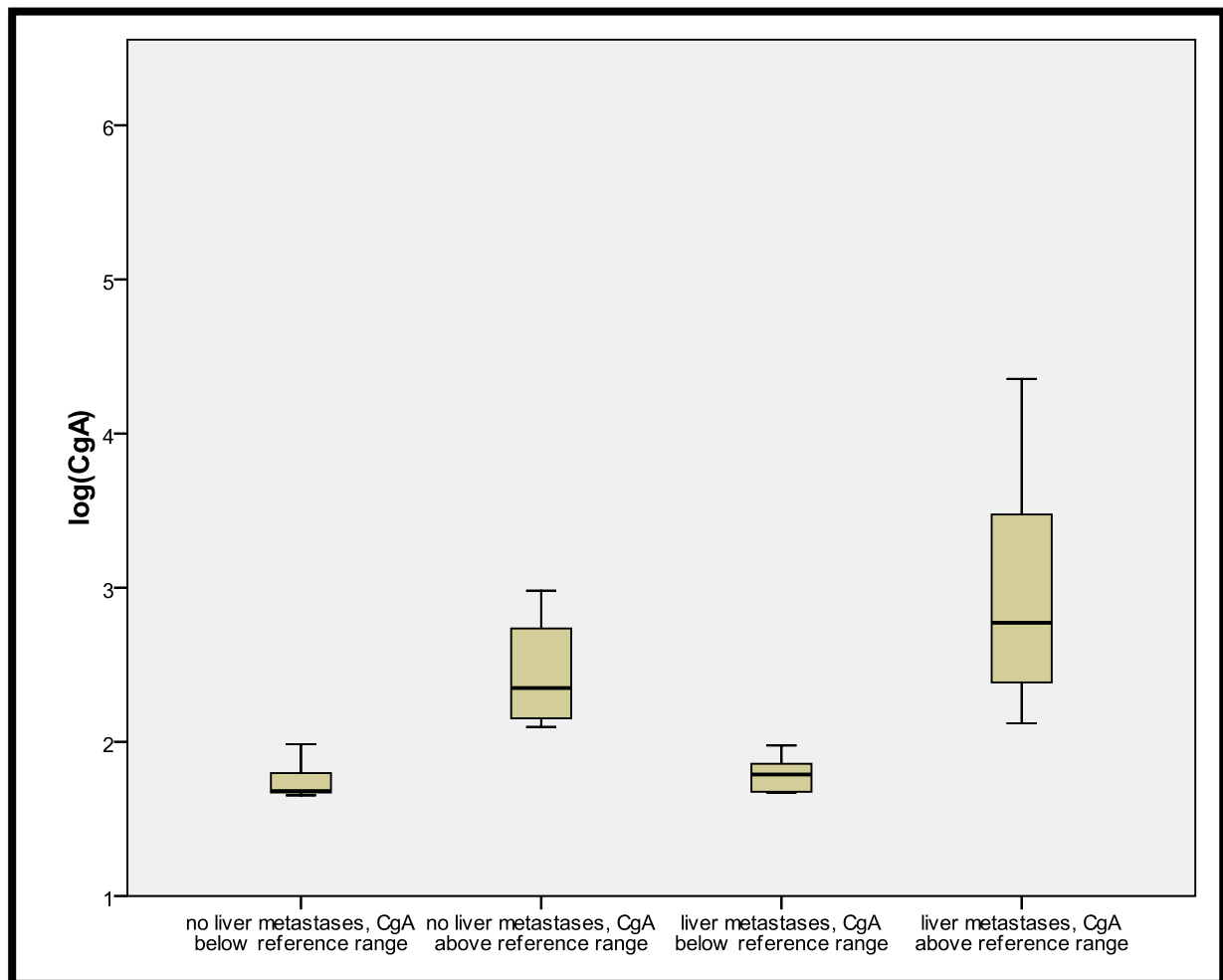


Abbildung 5: Logarithmische mediane CgA-Werte ($\log_{10}(\text{CgA})$, CgA in ng/ml) bei den untersuchten Pankreas-NET Patienten

Bei 22 Pankreas-NET Patienten mit Lebermetastasen und erhöhten medianen CgA-Werten ergab sich aus allen CgA-Wertbestimmungen ($n = 132$) ein Range von 98 – 161.000 ng/ml, der Median (Mittelwert) aller CgA-Einzelwerte betrug 541 ± 18485 ng/ml (6131 ± 18458 ng/ml). Bei den 4 Pankreas-NET Patienten ohne Lebermetastasen und erhöhten medianen CgA-Werten ergab sich ein Range der Einzelmessungen ($n = 20$) von 125 – 4242 ng/ml, der Median (Mittelwert) aller CgA-Einzelwerte dieser Subgruppe betrug 368 ± 992 ng/ml (779 ± 992 ng/ml).

In der Subgruppe der Pankreas-NET Patienten haben wir außerdem die medianen CgA-Werte der Patienten mit Lebermetastasen \pm Lymphknotenmetastasen ($n = 25$;

Median \pm Standardabweichung: 153 \pm 6171 ng/ml; Range: 47 – 22642 ng/ml) mit den Werten der Patienten, die neben den Lebermetastasen noch zusätzliche Metastasen anderer Lokalisation zeigten (n = 10; Median \pm Standardabweichung: 498 \pm 3089 ng/ml; Range: 48 – 7707 ng/ml), verglichen und konnten keine signifikanten Unterschiede feststellen (p = 0,273).

3.2.3.2 CgA bei Midgut-NETs

Von den 62 Patienten mit einem Midgut-NET, fanden sich bei 42 Patienten mediane CgA-Werte über dem Referenzwert. Hieraus ergab sich eine Sensitivität von 68 % für CgA als Tumormarker bei Midgut-NETs (*Abbildung 6A*). Wenn wir hier die niedrigeren Cutoff-Level von 70 bzw. 53 ng/ml [27, 29] anwandten, ergaben sich für die Midgut-NET-Gruppe ebenfalls höhere Sensitivitäten von 79 % bzw. 86 %.

Nach Unterteilung in zwei Subgruppen, nämlich Patienten mit Lebermetastasen und Patienten ohne Lebermetastasen, wurde die Sensitivität für die beiden Subgruppen ermittelt. Hierbei zeigten 36 der 47 Patienten mit Lebermetastasen erhöhte mediane CgA-Werte, woraus sich eine Sensitivität von 77 % für die Subgruppe der Midgut-NET Patienten mit Lebermetastasen ergab (*Abbildung 6B*). Nur 6 der 15 Midgut-NET Patienten ohne Lebermetastasen zeigten mediane CgA-Werte über dem Referenzwert, so dass sich für diese Untergruppe eine Sensitivität von lediglich 40 % ergab. Auch hier konnten, unter Verwendung der niedrigeren Cutoff-Level von 70 bzw. 53 ng/ml [27, 29], höhere Sensitivitäten für die Patientengruppe mit hepatisch metastasierten Midgut-NETs von 87 % bzw. 94 %, sowie 53 % bzw. 60 % bei der Midgut-NET-Patientengruppe ohne Lebermetastasen errechnet werden.

Die *Tabellen 5A und 5B* zeigen die Sensitivitäten für CgA in Abhängigkeit des Tumorprimarius, der Metastasierung und des zugrunde gelegten Cutoff-Levels.

3 von den 9 Patienten (33 %) ohne jegliche Metastasen (localized disease), 2 der 5 Patienten (40 %) die ausschließlich Lymphknotenmetastasen aufwiesen und der Patient mit Lungen- und Lymphknotenmetastasen hatten mediane CgA-Werte über dem Referenzwert.

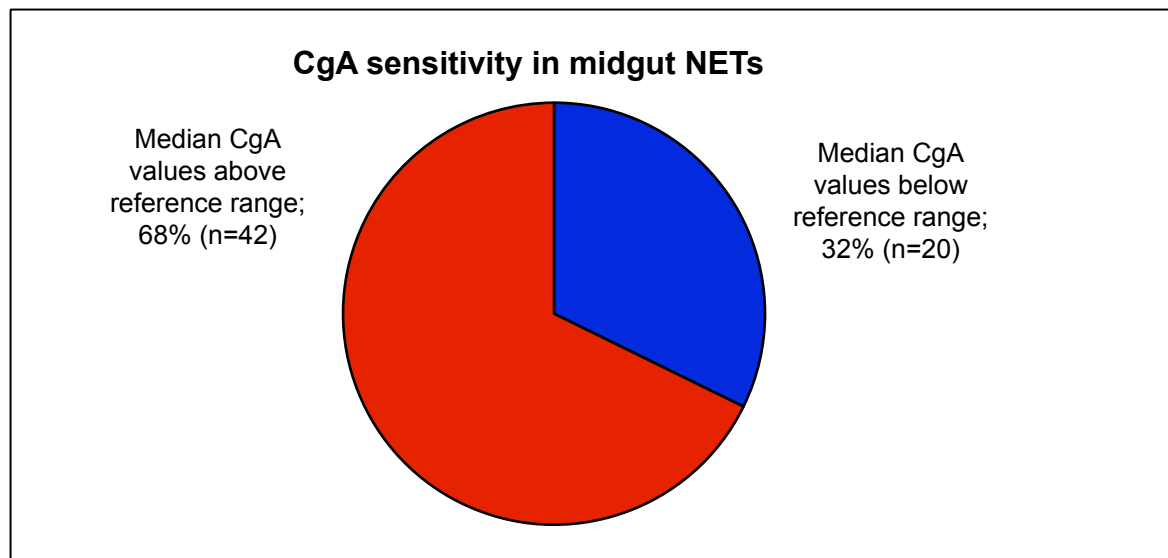


Abbildung 6A: CgA-Sensitivität bei Patienten mit Midgut-NET

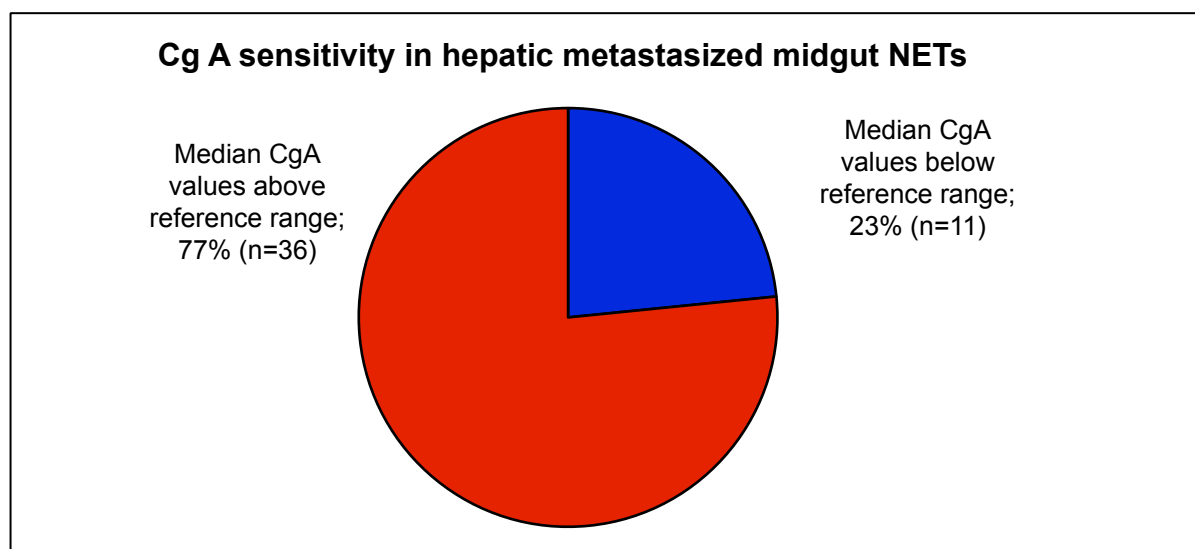


Abbildung 6B: CgA-Sensitivität bei Midgut-NET Patienten mit Lebermetastasen

Ferner verglichen wir die medianen CgA-Werte über dem Referenzwert von Midgut-NET Patienten ohne Lebermetastasen ($n = 6$; Median \pm Standardabweichung: 178 ± 91 ng/ml; Range: 110 ng/ml – 329 ng/ml) mit den medianen CgA-Werten von Patienten der Midgut-Subgruppe mit Lebermetastasen ($n = 36$; Median \pm Standardabweichung: 1704 ± 56894 ng/ml; Range: 128 ng/ml – 335000 ng/ml). Midgut-NET Patienten mit Lebermetastasen zeigten signifikant höhere mediane CgA-Werte als die Patienten dieser Gruppe ohne Lebermetastasen ($p = 0,002$) (Abbildung 7).

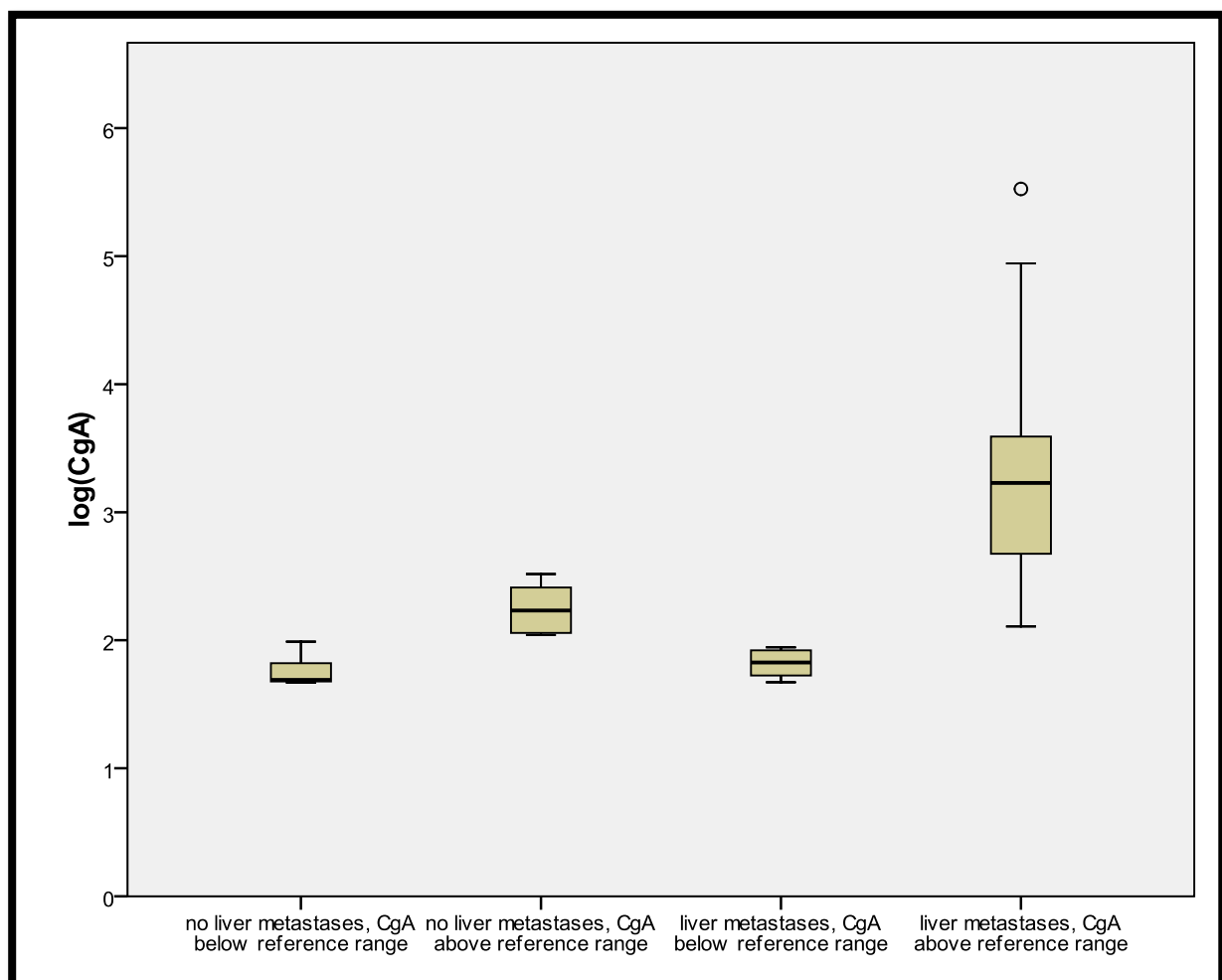


Abbildung 7: Logarithmische mediane CgA-Plasma-Werte ($\log_{10}(\text{CgA})$, CgA in ng/ml) bei den untersuchten Midgut-NET Patienten

Bei 36 Midgut-NET-Patienten mit Lebermetastasen und erhöhten medianen CgA-Werten ergab sich aus allen CgA-Messungen ($n = 300$) ein Range von 100 – 1.200.000 ng/ml, wobei der Median (Mittelwert) aller CgA-Messungen bei 1.521 ± 101.068

ng/ml (16.148 ± 101.068 ng/ml) lag. Bei 6 Patienten ohne Lebermetastasen mit erhöhten medianen CgA-Werten ergab sich aus den CgA-Einzelmesungen ($n = 35$) ein Range von 103 – 764 ng/ml, hier lag der Median (Mittelwert) aller Messungen bei 259 ± 189 ng/ml (290 ± 189 ng/ml).

In der Untergruppe der Midgut-NET-Patienten haben wir außerdem die medianen CgA-Werte von Patienten mit Lebermetastasen \pm Lymphknotenmetastasen ($n = 28$; Median \pm Standardabweichung: 325 ± 1836 ng/ml; Range: 47 ng/ml – 8133 ng/ml) mit den Werten von Patienten, die neben den Lebermetastasen zusätzlich extrahepatische Metastasenherde aufwiesen ($n = 19$; Median \pm Standardabweichung: 2293 ± 77538 ng/ml; Range: 83 – 335000 ng/ml), verglichen. Hier konnten wir signifikant höhere CgA-Werte bei den Patienten mit hepatischer und extrahepatischer Metastasierung nachweisen, als bei den Patienten mit Lebermetastasen \pm Lymphknotenmetastasen ($p = 0,012$).

Abbildung 8 zeigt logarithmisch transformierte mediane CgA-Plasma-Werte der gesamten Studienpopulation (Pankreas- und Midgut-NET-Patienten), unterteilt in Patienten mit Lebermetastasen und Patienten ohne Lebermetastasen.

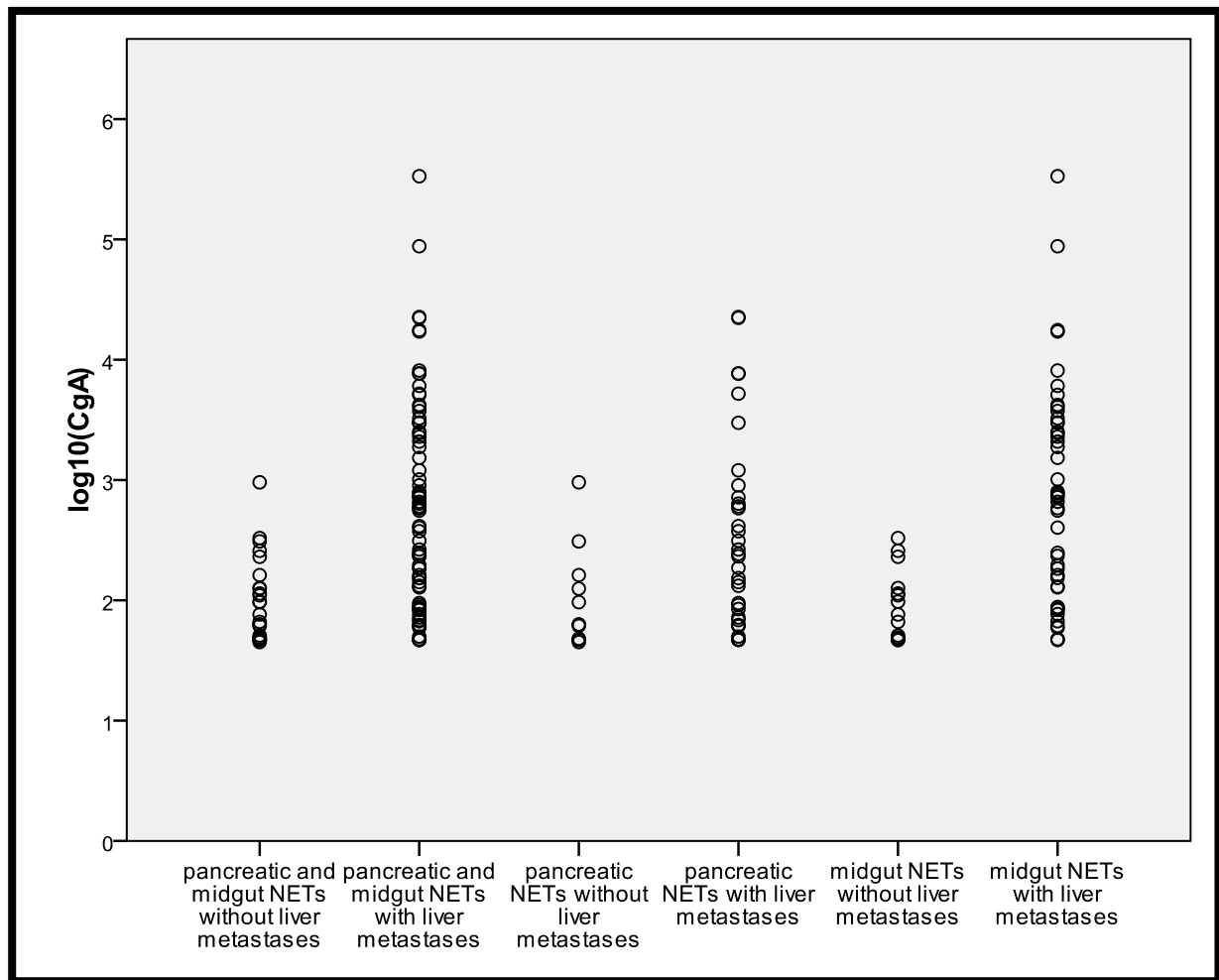


Abbildung 8: Logarithmische mediane Plasma-CgA-Werte ($\log_{10}(\text{CgA})$, CgA in ng/ml) der untersuchten 110 Patienten (Pankreas- und Midgut-NETs), unterteilt in Patienten mit Lebermetastasen und Patienten ohne Lebermetastasen

3.3 Alkalische Phosphatase (AP)

Während 20 der 48 Patienten mit einem Pankreas-NET mediane AP-Werte über dem Referenzwert (> 135 U/l) hatten, was sich in einer Sensitivität von 42 % ausdrückt, hatte nur 16 der 62 Midgut-NET-Patienten erhöhte mediane AP-Werte, was hier zu einer Sensitivität von lediglich 26 % führt. In der Untergruppe der hepatisch metastasierten Pankreas-NET-Patienten wurden mediane AP-Werte oberhalb des Referenzwertes in 49 % der Fälle beobachtet, für die Subgruppe der Midgut-NET-Patienten mit Lebermetastasen ergaben sich eine Sensitivität von 32 %. (Tabellen 6A und 6B).

	Pankreas NETs	Midgut NETs
Sensitivität für AP AP Cutoff level [U/l]: 135	20/48 (42%)	16/62 (26%)

Tabelle 6A: Sensitivität für AP in Abhängigkeit des Tumorprimarius.

Sensitivität für AP AP Cutoff level [U/l]: 135	Keine Lebermetastasen	Lebermetastasen
Pankreas NETs (N=48)	3/13 (23%)	17/35 (49%)
Midgut NETs (N=62)	1/15 (0,1%)	15/47 (32%)

Tabelle 6B: Sensitivität für AP in Abhängigkeit des Tumorprimarius und dem Vorhandensein von Lebermetastasen.

Des Weiteren bestimmten wir den Korrelationskoeffizient zwischen AP/CgA-Datenpaaren, d. h. jeden verfügbaren, zum gleichen Zeitpunkt bestimmten CgA- und AP-Wert, die bei einem Patienten bestimmt wurden. AP- und CgA-Werte wurden hierfür jeweils in das Verhältnis zum oberen Referenzwert (CgA: 98 ng/ml; AP: 135 U/l) gesetzt. CgA und AP zeigten eine geringe Korrelation in der Gruppe der Midgut-NET-Patienten ($r = 0,208$) und in der Untergruppe der hepatisch Metastasierten Midgut-NETs ($r = 0,162$). Eine etwas höhere, jedoch nicht signifikante Korrelation von CgA und AP, konnten wir bei der Pankreas-NET-Gruppe ($r = 0,362$)

und auch hier bei der Untergruppe der Pankreas-NET-Patienten mit Lebermetastasen ($r = 0,432$).

Abbildung 9 zeigt die verschiedenen Kombinationen von AP/CgA-Datenpaaren der Pankreas-NET-Gruppe.

Abbildung 10 gibt einen Überblick über die verschiedenen Kombinationen von AP/CgA-Datenpaaren der Midgut-NET-Gruppe.

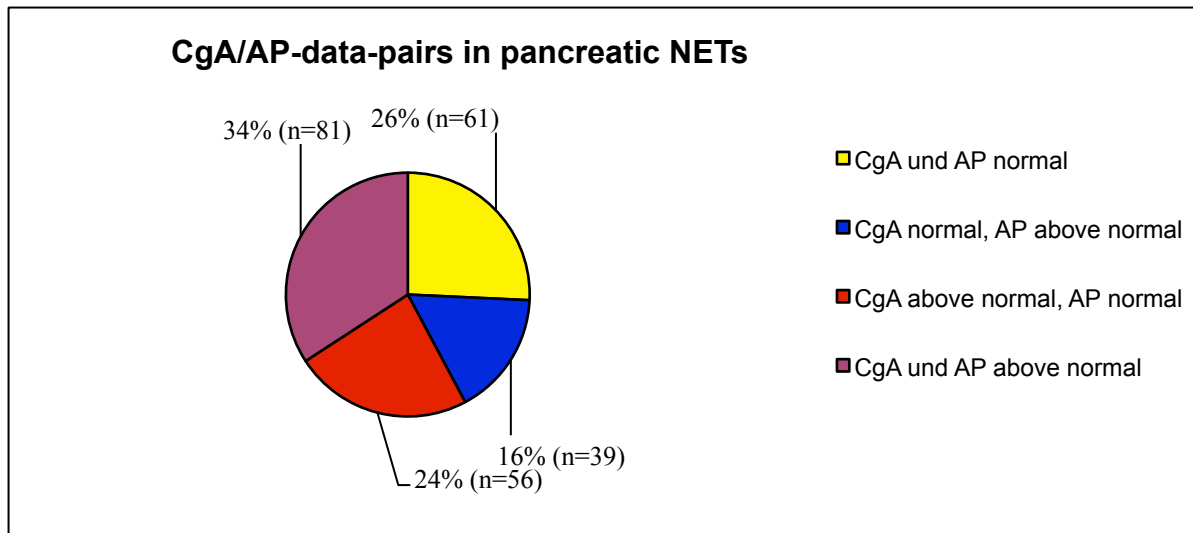


Abbildung 9: Verschiedene Kombinationen von AP/CgA-Datenpaaren bei Pankreas-NETs

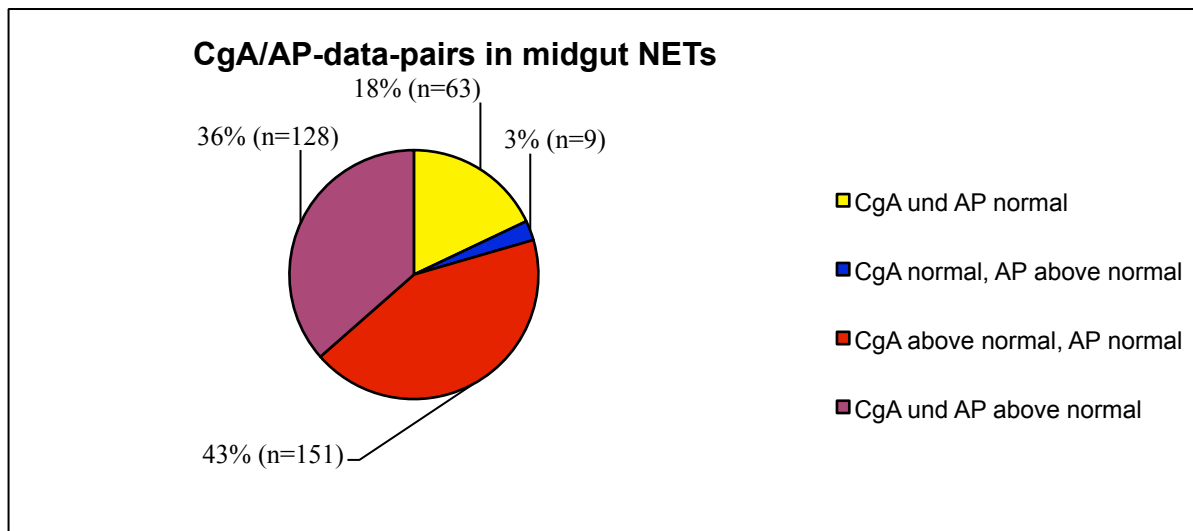


Abbildung 10: Verschiedene Kombinationen von AP/CgA-Datenpaaren bei Midgut-NETs

3.4 5-Hydroxy-Indolessigsäure (5-HIES)

Messungen der 5-HIES im 24-Stunden-Sammelurin waren bei 51 von 62 Midgut-NET-Patienten verfügbar. Bei 35 dieser 51 Patienten konnten erhöhte mediane 5-HIES-Werte (Referenzwert: <9,0 mg/24 h) nachgewiesen werden, was zu einer Sensitivität von 69 % (*Abbildung 11A*) führte. Alle 35 Patienten der Patienten mit erhöhten medianen 5-HIES-Werten gehörten auch der Untergruppe der 40 Midgut-NET-Patienten mit Lebermetastasen an, was sich in einer Sensitivität von 87,5 % für hepatisch Metastasierte NETs (*Abbildung 11B und Tabelle 7*) ausdrückt.

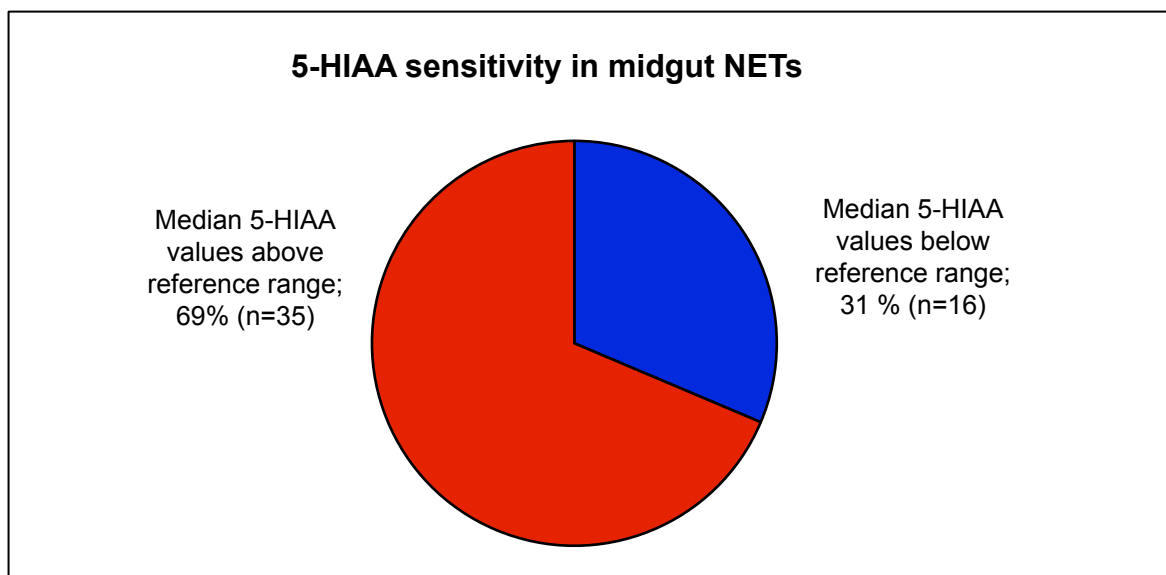


Abbildung 11A: Gesamtsensitivität für 5-HIES bei Midgut-NETs

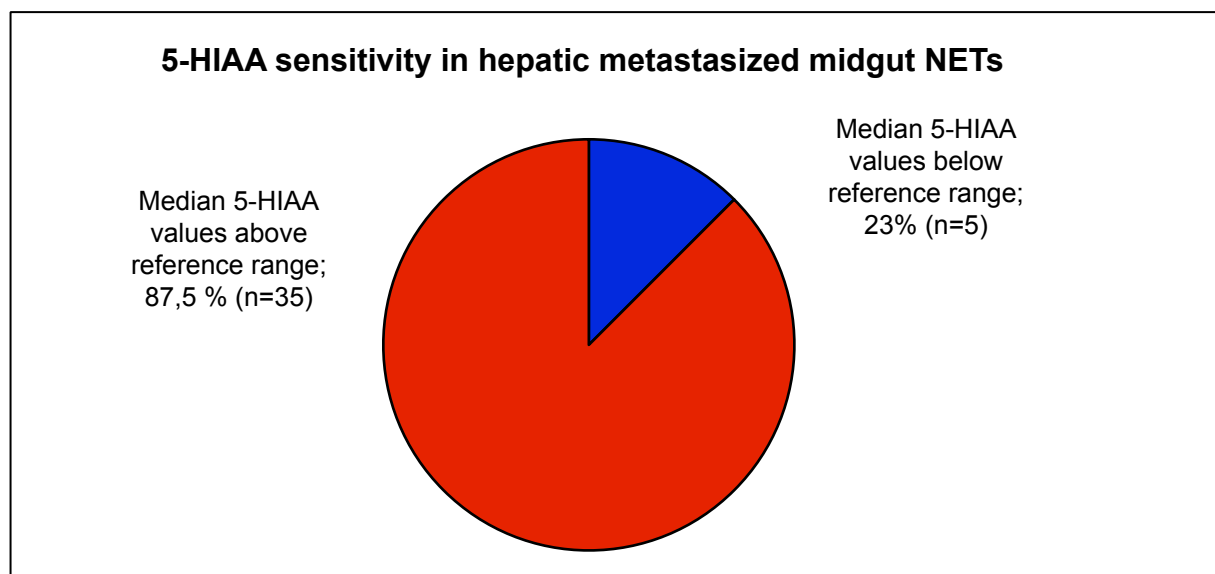


Abbildung 11B: 5-HIES-Sensitivität bei hepatisch Metastasierten Midgut-NETs

Sensitivität für 5-HIES 5-HIAA Cutoff level [mg/24h]: < 9	Keine Lebermetastasen	Lebermetastasen
Midgut NETs (N=51)	0/11 (0%)	35/40 (88%)

Tabelle 7: Sensitivität für 5-HIES in Abhängigkeit des Vorhandenseins von Lebermetastasen bei Midgut NETs.

Alle 11 Patienten der Subgruppe von Patienten mit Midgut-NET ohne Lebermetastasen zeigten normale 5-HIES-Werte im 24-Stunden-Sammelurin. Von den 11 Patienten ohne Lebermetastasen hatten 7 Patienten gar keine Metastasen (localized disease), bei 4 der 11 Patienten konnten ausschließlich Lymphknotenmetastasen nachgewiesen werden.

Wir fanden signifikant höhere mediane 5-HIES-Werte bei Midgut-NET-Patienten mit Lebermetastasen vor, als bei Patienten ohne hepatische Metastasierung ($p < 0,0001$).

Außerdem konnten wir eine signifikante Korrelation zwischen medianen CgA-Werten und 5-HIES-Werten bei Patienten mit einem Midgut-NET errechnen (Spearman Korrelationskoeffizient $r = 0,752$, $p < 0,0001$). Eine ebenfalls signifikante Korrelation für mediane CgA- und 5-HIES-Werte ergab sich bei der Subgruppe der hepatisch Metastasierten Midgut-NET-Patienten (Spearman Korrelationskoeffizient $r = 0,696$, $p < 0,0001$).

Es gab keine signifikante Korrelation zwischen medianen CgA- und 5-HIES-Werten für die Untergruppe der Midgut-NET-Patienten ohne Lebermetastasen (Spearman Korrelationskoeffizient $r = 0,036$, $p = 0,915$).

4 Diskussion

4.1 Chromogranin A (CgA)

Für die CgA-Messungen verwendeten wir den CIS-bio-Kit (Immunoradiometrischer Assay; IRMA; Cis-bio International, Gif-sur-Yvette, France). Wir errechneten eine CgA-Sensitivität von 68 % bei Midgut-NET-Patienten und eine Sensitivität von 54 % bei Patienten mit einem Pankreas-NET, woraus sich eine Gesamtsensitivität von 62 % für das Gesamtkollektiv ergibt (Referenzwert CgA < 98 ng/ml).

Kritisch muss die Arbeit bewertet werden bzgl. des retrospektiven Designs und der Datenanalyse nur anhand von Mittelwerten der Einzelpersonen und damit unzureichender Korrelation mit dem individuellen Krankheitsverlauf - ein Kritikpunkt der auch für viele der publizierten Studien angemerkt werden muss. Weiterhin kritisch zu sehen ist die fehlende Erfassung von Kofaktoren welche die Chromogranin A Spiegel erhöhen können (z.B. Medikation mit Protonenpumpeninhibitoren oder Nierenfunktionseinschränkung) oder erniedrigen können (z.B. Medikation mit Somatostatinanaloga). Zukünftige prospektive Studien mit enger Korrelation zum klinischen Verlauf der Patienten und der Erfassung von Kofaktoren sind hier anzustreben.

4.1.1 Sensitivität und Spezifität für CgA in Abhängigkeit zum verwendeten Cutoff-Level und verwendetem Assay zur Bestimmung

Sensitivität und Spezifität von CgA als Tumormarker für Neuroendokrine Tumoren hängen stark von dem zur Bestimmung verwendeten Assay und von dem höchsten als noch normal bezeichneten Referenzwert ab [27-29]. In einer Studie untersuchten Stridsberg et al. [28] die Sensitivität von CgA für gastroenteropankreatische NETs (Pankreas-, Foregut-, Midgut-NETs, neuroendokrin differenzierte Tumore) in Abhängigkeit von drei verschiedenen kommerziellen Assays. Sie berichteten von Gesamtsensitivitäten von CgA von 67 % (CIS-bio kit; cutoff level: CgA < 99 ng/ml),

85 % (DAKO ELISA kit; cutoff level: CgA < 19 U/l) und 93 % (EuroDiagnostica assay; cutoff level: CgA < 4*1 nmol/l). Stridsberg et al. bestimmten außerdem die Gesamtspezifität von CgA für die drei verwendeten Assays und entdeckten die höchste Spezifität von 96 % für das CIS-bio IRMA kit, eine etwas niedrigere Spezifität von 85 % für die beiden anderen verwendeten Assays (DAKO kit und EuroDiagnostica assay) [28]. Wir sehen die Daten von Stridsberg et al. [28] durch unsere aktuelle Studie, bei der wir ebenfalls das CIS-bio IRMA kit mit einem ähnlichen Cutoff-Level (CgA < 98 ng/ml; Stridsberg et al.: CgA < 99 ng/ml [28]) verwendeten, bestätigt. Stridsberg berichtete mit dem CIS-bio IRMA kit eine Sensitivität von 67 % bei Patienten mit neuroendokrinen Tumoren, wir errechneten eine ähnliche Sensitivität von 62 % bei Patienten mit gastroenteropankreatischen NETs (Primarius im Pankreas oder im Midgut-Bereich). Zatelli et al. haben im Gegensatz dazu einen niedrigeren Cutoff-Level (CgA < 53 ng/ml) für das CIS-bio IRMA kit mittels der „Receiver Operating Characteristics“ (ROC) Analyse bei 202 Foregut- und Midgut-NET-Patienten festgelegt und sind dabei auf eine höhere CgA-Sensitivität von 77,8 % gekommen, errechneten jedoch eine geringere Spezifität von 71,3 % [29]. Ähnliches berichteten Ferrari et al. von dem CIS-bio IRMA kit bei NETs (Karzinoid, Pankreas-NETs, NETs mit unbekanntem Primarius und andere NETs). Sie kamen bei einer Studie, die 93 Patienten mit NETs umfasste, und ein Cutoff-Level von 70 ng/ml zugrunde legte, auf eine hohe Sensitivität von 79 % aber auf eine geringe Spezifität von nur 64 % [27].

Tabelle 8 gibt einen Überblick über die Studienpopulation (n), Sensitivität, Spezifität und die zugrunde gelegten Cutoff-Level für CgA bei Verwendung des CIS-bio IRMA kits in verschiedenen Studien mit NET-Patienten.

	Literatur			Eigene Daten		
CIS-bio IRMA kit	Stridsberg et al. (n=45)	Zatelli et al. (n=202)	Ferrari et al. (n=93)	(n=110)	(n=110)	(n=110)
Sensitivität	67%	78 %	79 %	62 %	73 %	83 %
Spezifität	96 %	71 %	64 %	n. a.	n. a.	n. a.
CgA Cutoff level [ng/ml]	< 99	< 53	< 70	< 98	< 70	< 53

Tabelle 8: Sensitivität, Spezifität und Cutoff-Level für CgA (CIS-bio-IRMA kit)

n. a. = not assessed, n = Anzahl der Patienten

Mit dem DAKO ELISA Kit wurde in den meisten Studien eine höhere Sensitivität und Spezifität erreicht als mit dem CIS-bio IRMA Kit [27, 29, 33]. *Tabelle 9* gibt einen Überblick über die in den verschiedenen Studien errechnete Sensitivität und Spezifität in Abhängigkeit des zugrunde gelegten Cutoff-Levels bei Verwendung des DAKO ELISA Kits.

DAKO ELISA kit	Stridsberg et al. (n = 45)	Zatelli et al. (n = 202)	Ferrari et al. (n = 93)	Tomassetti et al. (n = 80)
Sensitivität	85 %	84 %	79 %	56 %
Spezifität	85 %	85.3 %	91 %	n. a.
CgA Cutoff level [U/L]	< 19	< 16	< 34	< 17

Tabelle 9: Sensitivität, Spezifität und Cutoff Level für CgA (DAKO ELISA Kit)

n. a.: not assessed, n: number of patients

Unter Verwendung des CIS-bio Kits und eines niedrigen Cutoff-Levels für CgA < 53 ng/ml, konnten Zatelli et al. einen deutlich höheren positiv-prädiktiven-Wert (PPW) und ähnliche negativ-prädiktiven-Werte (NPW) für CgA bei Pankreas NETs (43 %

und 93 %) im Vergleich zu Midgut (Ileum und Colon) NETs (35 % und 90%) sowie nur für Ileum NETs (29 % und 92 %) bestimmen.

Nobels et al. beschrieb unter der Verwendung verschiedener hauseigener RIAs (Radioimmunoassay) bei 211 NET-Patienten (Gastrinome, Phäochromozytome, Midgut- und Pankreas-NETs und medulläre Schilddrüsenkarzinome) bei einem Cutoff für CgA von < 175 ng/ml eine Gesamt-CgA-Sensitivität und -Spezifität von 53 % und 93 % [21]. Schürmann et al. fand im Gegensatz dazu in einer Studie, die 33 NETs einschloss (Forgut-, Midgut- und Pankreas-NETs), eine Gesamt-CgA-Sensitivität von 91 % bei einem Cutoff Level für CgA von < 100 ng/ml [31].

4.1.2 Einfluss von Tumorprimarius und Tumorlast auf die CgA-Sensitivität

Bei der Verwendung von CgA als Tumormarker für neuroendokrine Tumoren ist zu beachten, dass die CgA-Sensitivität in Abhängigkeit des Tumorprimarius stark variieren kann [30]. Dies wurde in einer aktuellen Review-Arbeit von Modlin et al. herausgestellt, in der 1721 Patientendaten aus verschiedenen Studien analysiert wurden [20].

Tabelle 10 gibt einen Überblick über einige Studien, bei denen in Abhängigkeit des Primarius Untergruppen gebildet wurden. Alle Studien zeigen tendenziell eine höhere CgA-Sensitivität für NET des Midgut als für NET des Pankreas [22, 27, 30]. Dieses Ergebnis wird auch durch unsere aktuelle Studie bestätigt.

	Pankreas NETs	Sensitivität für Pankreas NETs	Midgut NETs	Sensitivität bei Midgut NETs
CIS-bio IRMA kit				
Stridsberg et al. CgA Cutoff level [ng/ml]: 99	n = 16*	69 %	n=11	73 %
Ferrari et al. CgA Cutoff level [ng/ml]: 70	n = 36**	58 %	n=14	85 %
Eigene Daten CgA Cutoff level [ng/ml]: 98	n=48***	54 %	n=62	68 %
Eigene Daten CgA Cutoff level [ng/ml]: 70	n=48***	65 %	n=62	79 %
Eigene Daten CgA Cutoff level [ng/ml]: 53	n=48***	79 %	n=62	86 %
DAKO ELISA kit				
Tomassetti et al. CgA Cutoff level [U/L]: 17	n=29****	55 %	n=34	59 %
Stridsberg et al. CgA Cutoff level [U/L]: 19	n=16*	81 %	n=11	91 %
Ferrari et al. CgA Cutoff level [U/L]: 34	n=36**	92 %	n=14	81 %
RIA				
Nobels et al. CgA Cutoff level [ng/ml]: 175	n=34*****	32 %	n=59	80 %

Tabelle 10: CgA-Sensitivität für NETs unterteilt in Pankreas- und Midgut-NETs (CIS-bio IRMA Kit, hauseigene RIA, DAKO ELISA Kit)

* Pankreas NETs, ** Inselzelltumoren des Pankreas, *** Inselzelltumoren des Pankreas, **** 21 funktionell inaktive Pankreas-NETs, 4 Gastrinome, 2 Somatostatinome, 2 Glukagonome, ***** 13 Inselzelltrumoren des Pankreas, 21 Insulinome

Unter den Patienten ohne Lebermetastasen beobachteten wir höhere mediane CgA-Werte bei Patienten mit einem Pankreas-NET als bei Patienten der Midgut-NET-Gruppe (236 ng/ml vs. 178 ng/ml). Bei den Patienten mit hepatischer Metastasierung zeigte sich jedoch das Gegenteil. Hier fanden wir höhere mediane CgA-Werte bei Patienten mit einem Midgut-NET als bei den Patienten der Pankreas-NET-Gruppe (1.704 ng/ml vs. 593 ng/ml).

Arnold et al. beurteilten CgA-Werte bei 344 Patienten mit metastasierten, gut differenzierten Foregut (Pankreas, Duodenum, Bronchien), Midgut und Hindgut NETs gemessen mit dem DAKO ELISA Kit. Dabei konnten sie feststellen, dass die höchsten CgA-Werte bei Patienten mit funktionell aktiven (Karzinoid Syndrom) Midgut NETs auftraten, was in unserer Studienpopulation den hepatisch metastasierten Midgut NETs entspricht. Des Weiteren wurden höhere CgA-Werte bei Patienten mit funktionell inaktiven und aktiven Pankreas NETs gemessen, als bei Patienten mit funktionell inaktiven Midgut NETs. Die niedrigsten CgA-Werte stellten Arnold et al.[37] bei den Hindgut NETs fest.

Wir unterteilten unsere Studienpopulation in Patienten mit Lebermetastasen und Patienten ohne Lebermetastasen, wobei sich signifikant höhere mediane CgA-Werte bei NET Patienten mit hepatischer Metastasierung, als bei den Patienten ohne Lebermetastasen, zeigten ($p < 0,0001$). Von allen NET Patienten unserer Studie wiesen 75 % Lebermetastasen zum Zeitpunkt der Diagnose auf (*Tabelle 11*).

Es fanden sich außerdem signifikant höhere mediane CgA-Werte bei Patienten, die neben den Lebermetastasen zusätzlich extrahepatische Metastasierung aufwiesen als bei Patienten die neben der hepatischen Metastasierung nur Lymphknotenmetastasen aufwiesen ($p = 0,005$).

	Lebermetastasen	keine Lebermetastasen	Gesamt
Pankreas-NET	35 (73 %)	13 (27 %)	48
Midgut-NET	47 (76 %)	15 (24 %)	62
Gesamt	82 (75 %)	28 (25 %)	110

Tabelle 11: Lebermetastasen zum Zeitpunkt der Diagnose

Lediglich bei 31 % der Pankreas-NET Patienten ohne Lebermetastasen und bei 40 % der Midgut-NET Patienten ohne Lebermetastasen konnten mediane CgA-Werte oberhalb des von uns verwendeten Cutoff-Levels nachgewiesen werden. Dies führte nach unserer Datenlage zu einer niedrigen CgA-Gesamtsensitivität (für die Gruppen Pankreas-NETs und Midgut-NETs) für Patienten ohne Lebermetastasen.

Ähnliches beschrieben auch Arnold et al. in ihrer Studie mit insgesamt 344 NET-Patienten (Foregut- (Pankreas, Duodenum, Bronchien), Midgut- und Hindgut-NETs) [37]; die CgA-Werte wurden hier mit dem DAKO ELISA Kit bestimmt. Auch sie berichteten, dass bei Patienten ohne Lebermetastasen niedrigere Plasma-CgA-Werte (Median: 25 U/l; Range: 6 – 299 U/l) auftraten als bei Patienten mit einer hepatischen Tumorlast ≤ 25 % (Median: 48 U/l; Range: 6 – 2394 U/l). Noch höhere Plasma-CgA-Werte zeigten sich bei Patienten mit einer hepatischen Tumorlast zwischen 25 % und 50 % (Median: 704 U/l; Range: 13 – 14710 U/l). Die höchsten CgA-Werte wurden bei Patienten mit einer hepatischen Tumorlast > 50 % (Median: 1009 U/l; Range: 188 – 6478 U/l) nachgewiesen. Zusätzliche extrahepatische Lymphknotenmetastasen bei Vorhandensein von Lebermetastasen haben die gemessenen CgA-Werte nicht weiter erhöht [37].

Janson et al. untersuchten 311 Patienten mit Foregut-, Midgut- und Hindgut-NETs, von denen 223 (74 %) Lebermetastasen zum Zeitpunkt der Studie aufwiesen, was mit unseren Daten (82/110 (75 %) Patienten mit Lebermetastasen) gut korreliert und wohl die Patientenkollektive an tertiären Zentren widerspiegelt. Janson et al. konnten außerdem signifikant höhere Plasma-CgA-Werte unter Patienten mit multiplen (≥ 5) Lebermetastasen (Median: 8374 $\mu\text{g/l}$; Range: 450 – 100000 $\mu\text{g/l}$)

nachweisen als bei Patienten mit nur wenigen (< 5) Lebermetastasen (Median: 959 $\mu\text{g/l}$; Range: 180 – 14200 $\mu\text{g/l}$) oder bei Patienten die ausschließlich Lymphknotenmetastasen aufwiesen (Median: 451 $\mu\text{g/l}$; Range: 155 – 11200 $\mu\text{g/l}$) ($p < 0,001$) [34].

In unserer Studie zeigten lediglich 3/9 (33 %) Patienten, die nur Lymphknotenmetastasen aufwiesen, erhöhte CgA-Werte, was auch zeigt, dass Lymphknotenmetastasen die Höhe der CgA-Werte nicht relevant beeinflussen – dies entspricht den Ergebnissen von Janson et al. [34] und Arnold et al. [37] .

Unser Ergebnisse bestätigen auch eine Studie von Zatelli et al., in der von signifikant höheren mittleren CgA-Werten bei Patienten mit Metastasen als bei Patienten ohne Metastasen berichtet wird. Außerdem beobachteten auch Zatelli et al. höhere CgA-Werte bei Patienten mit hepatischer Metastasierung als bei Patienten mit nur lokal fortgeschrittener Erkrankung [29].

Um das beste CgA-Cutoff-Level für die Unterscheidung von Patienten mit bzw. ohne Metastasen bei Ausschluss der Patienten in Tumorremission oder mit „Stable Disease“ zu finden bedienten sich Zatelli et al. der ROC-Analyse. Ein Cutoff-Level für CgA $< 146 \mu\text{g/l}$ bei Verwendung des CIS-bio IRMA Kits bot den besten Kompromiss zwischen Sensitivität (57 %) und Spezifität (55,6 %) um Patienten mit Metastasen von Patienten ohne Metastasen bei der Erstdiagnose eines NETs oder eines NET-Rezidives zu unterscheiden. Der beste Kompromiss zwischen Sensitivität (63,3 %) und Spezifität (71,4 %) für den DAKO ELISA Kit konnte bei der Festlegung des CgA-Cutoff-Levels $< 67,3 \text{ U/l}$ gefunden werden. Laut der Studie von Zatelli et al. verspricht der DAKO ELISA Kit eine höhere Sensitivität und Spezifität zur Unterscheidung von Patienten mit metastasierten bzw. nicht-metastasierten NETs bei Erst- und Rezidivdiagnose als der CIS-bio IRMA Kit. [29]

Im Gegensatz zu den Ergebnissen unserer Studie beschreiben Zatelli et al. für den CIS-bio IRMA Kit genauso wie für den DAKO ELISA Kit niedrigere CgA-Werte bei Patienten mit hepatischer und extrahepatischer Metastasierung ($194,8 \pm 123,2 \text{ ng/ml}$, Range: 69 – 423 ng/ml ; $81,5 \pm 70,7 \text{ U/l}$, Range: 13 – 255 U/l) als bei Patienten die nur eine hepatische Metastasierung aufwiesen ($800,9 \pm 1206,7 \text{ ng/ml}$, Range: 36 – 4690 ng/ml ; $515,2 \pm 773,2 \text{ U/l}$, Range: 9 – 3018 U/l) [29].

Tomasetti et al. untersuchten eine Gruppe von 34 Midgut-NET-Patienten, elf Patienten dieser Gruppe wiesen sehr hohe CgA-Werte (110 – 905 U/l) auf. 91 % (10/11) der Patienten mit besonders hohen CgA-Werten hatten multiple Lebermetastasen, während nur einer dieser 11 Patienten (9 %) einen nicht-metastasierten Primarius hatte. Bei 9 Patienten wurden moderat erhöhte CgA-Werte (24 – 91 U/l) bestimmt. 2/9 Patienten (22 %) wiesen Lebermetastasen auf, während bei 7/9 Patienten (78 %) außer dem Primarius keine weiteren Tumorlokalisationen auftraten. Von den 7 Patienten ohne Metastasen hatten 4 Patienten bereits eine radikale chirurgische Therapie hinter sich.

Nimmt man die Patienten mit sehr stark erhöhten CgA-Werten und diejenigen mit moderat erhöhten CgA-Werten zusammen, wiesen 60 % (12/20) Lebermetastasen zum Zeitpunkt der Studie auf, während bei den 14 Patienten mit normalen CgA-Werten nur 3 (21 %) zum Studienzeitpunkt Lebermetastasen aufwiesen [33].

In einer Gruppe von 29 Patienten mit funktionell aktiven und funktionell inaktiven Pankreas-NETs zeigten 55 % (16/29) der Patienten sehr stark oder moderat erhöhte CgA-Werte. 10 der 16 Patienten mit erhöhten CgA-Werten wiesen zum Studienzeitpunkt Lebermetastasen auf, wohingegen nur bei 5/13 (39 %) Patienten mit normalen CgA-Werten Lebermetastasen zum Zeitpunkt der Studie diagnostiziert waren.

Tomasetti et al. unterteilte die Pankreas-NET-Gruppe in jeweils eine Gruppe der funktionell inaktiven bzw. funktionell aktiven NETs.

Die erste Gruppe umfasste 21 Patienten mit funktionell inaktiven Pankreastumoren. Bei 12 Patienten (57 %) dieser Untergruppe wurden sehr stark oder moderat erhöhte CgA-Werte gemessen. 10 dieser 12 Patienten (83 %) wiesen Lebermetastasen auf, während unter den 9 Patienten mit normalen CgA-Werten nur 2 Patienten (22 %) mit Lebermetastasen zu finden waren.

In der Untergruppe der 8 Patienten mit funktionell aktiven Pankreas-NETs hatten lediglich die 4 Patienten mit Gastrinomen (50 %) erhöhte CgA-Werte, die anderen 4 Patienten (zwei Glucagonome und zwei Somatostatinome) hatten jeweils normale CgA-Werte. Keiner der 4 Patienten mit einem Gastrinom mit erhöhten CgA-Werten wies Lebermetastasen auf. Bei 3 von den 4 Patienten mit normalen CgA-Werten waren Lebermetastasen diagnostiziert worden. Hieraus lässt sich auf eine hohe CgA-

Sensitivität für Gastrinome, unabhängig von der Existenz von Lebermetastasen, schließen [33].

Abgesehen von den Daten der Untergruppe mit funktionell aktiven Pankreas-NETs, bestätigt diese Datenlage, was auch unsere Studie zeigt. Nämlich, dass hohe CgA-Werte bei Midgut- und funktionell inaktiven Pankreas-NETs die Tumorlast – und hierbei vor allem das Vorhandensein von Lebermetastasen – widerspiegeln.

In unserer Studie zeigten sich bei 67 % (42/62) Midgut-NET-Patienten erhöhte CgA-Werte und, verglichen mit den Ergebnissen von Tomassetti et al., einen höheren Prozentsatz von 76 % (36/42) an Patienten mit erhöhten CgA-Werten und der Existenz von Lebermetastasen während gleichzeitig auch der Anteil der Patienten mit Lebermetastasen bei normalen CgA-Werten mit 55 % (11/20) in unserer Studie höher lag. Was evtl. auf eine höhere Spezifität bei einer geringeren Sensitivität für die Diagnose von Lebermetastasen bei Midgut-NET-Patienten schließen lässt, wenn das CIS-bio IRMA Kit anstelle des DAKO ELISA Kits (wie bei Tomassetti et al. der Fall) verwendet wird.

In unserer Pankreas-NET-Gruppe wiesen 54 % (26/48) der Patienten erhöhte CgA-Werte auf. Auch bei dieser Gruppe zeigt sich im Vergleich mit den Ergebnissen von Tomassetti et al., dass bei uns ein größerer Anteil (85 % = 22/26 Patienten) der Patienten mit erhöhten CgA-Werten gleichzeitig Lebermetastasen aufweist. Bei einem ebenfalls größeren Anteil (59 % = 13/22 Patienten) der Patienten mit normalen CgA-Werten waren Lebermetastasen bekannt. Somit scheint es für die Diagnose von Lebermetastasen auch bei Pankreas-NET-Patienten mit dem CIS-bio IRMA Kit im Vergleich zu dem DAKO ELISA Kit eine höhere Spezifität bei niedrigerer Sensitivität zu geben.

Schürmann et al. konnten in einer kleinen Kohorte von 33 Patienten mit NETs ausgesprochen hohe CgA-Sensitivität mittels RIA beschreiben [31]. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass 7 der Patienten ein Gastrinom hatten und bei 83 % der 18 Midgut-NET-Patienten sowie bei 75 % der 8 Pankreas-NET-Patienten Lebermetastasen vorhanden waren [31]. Für Gastrinome wurde schon früher eine sehr hohe CgA-Sensitivität, auch im Stadium der „localized disease“, beschrieben [21, 33, 44]. In Studien von Stridsberg et al., Ferrari et al. und Nobels et al. fand keine

Unterteilung der Studienpopulation in Patienten mit bzw. ohne Lebermetasen statt [22, 27, 28].

Nach oben stehender Datenlage scheint für die suffiziente Beurteilung von CgA-Sensitivitäten verschiedener Studienpopulationen und verschiedener CgA-Assays, die Analyse von Subgruppen (Patienten im Stadium der „localized disease“ vs. Patienten mit Fernmetastasen) unbedingt notwendig zu sein.

Wir entdeckten signifikant höhere mediane CgA-Werte bei Midgut-NET-Patienten mit Lebermetastasen als bei Midgut-NET-Patienten ohne hepatische Metastasierung ($p = 0,002$), während bei Pankreas-NET-Patienten der Unterschied zwischen Patienten mit bzw. ohne hepatische Metastasierung nicht signifikant war ($p = 0,177$). Zusätzlich konnten wir signifikant höhere CgA-Werte bei Patienten mit hepatischer und extrahepatischer Metastasierung feststellen als bei Patienten die lediglich Lebermetastasen (und Lymphknotenmetastasen) aufwiesen ($p = 0,012$). Bei den Patienten der Pankreas-NET-Gruppe konnte dagegen kein signifikanter Unterschied, für die CgA-Werte von Patienten mit Lebermetastasen und zusätzlich extrahepatischer Metastasierung und Patienten die nur Lebermetastasen (und Lymphknotenmetastasen) aufwiesen, gefunden werden.

Für Midgut-NET-Patienten ließ unsere Datenlage eine bessere Differenzierung zwischen Patienten ohne bzw. mit Lebermetastasen und Patienten mit Lebermetastasen und zusätzlicher extrahepatischer Metastasierung mittels CgA-Bestimmung zu als bei den Patienten der Pankreas-NET-Gruppe. Im Gegensatz dazu errechneten Zatelli et al. einen höheren positiv prädiktiven Werte (PPW) und einen höheren negativ prädiktiven Wert (NPW) für Pankreas-NETs (84 % und 78 %) als für Midgut-NETs (40 % und 46 %) unter Verwendung des CIS-bio IRMA Kits [29]. In diesem Bereich scheinen weitere Untersuchungen angezeigt.

4.2 Alkalische Phosphatase (AP)

Von generellem Interesse sind die verschiedenen Prognosefaktoren für das Überleben von NET-Patienten. Für CgA wurden schon mehrfach Korrelationen mit der Tumorlast, vor allem mit dem Vorhandensein von Lebermetastasen [21, 32-35, 37], einem kürzeren Überleben [34, 36, 37], für die Therapiemaßnahmenkontrolle [25, 31, 32, 35] sowie für die Tumorrezidive [38, 39] beschrieben. Eine erst vor kurzem veröffentlichte multivariate Studie von Clancy et al. legt nahe, dass auch erhöhte AP-Werte als ein negativer prognostischer Faktor bei Patienten mit NETs gesehen werden kann [42]. Deswegen untersuchten wir, ob sich eine signifikante Korrelation zwischen CgA- und AP-Werten bei Midgut- und Pankreas-NET-Patienten finden ließe. Jedoch konnten weder in der Pankreas-NET-Gruppe, noch in der Midgut-NET-Gruppe, signifikante Korrelationen zwischen CgA/AP-Datenpaaren, die zur gleichen Zeit bei dem jeweiligen Individuum bestimmt wurden, gefunden werden. Die Sensitivität für AP war für die Pankreas-NET- und Midgut-NET-Gruppen waren mit 42 % und 24 % niedrig. Ebenso niedrige AP-Sensitivitäten zeigten sich bei den Subgruppen von metastasierten Pankreas-NET- und Midgut-NET-Patienten (49 % und 32 %). Bei einem beträchtlichen Anteil von AP/CgA-Datenpaaren zeigten sich (24 % in der Pankreas-NET-Gruppe bzw. 43 % in der Midgut-NET-Gruppe) zwar erhöhte CgA-Werte, jedoch normale AP-Werte.

Dies stimmt mit den Ergebnissen von Clancy et al. über ein. Sie konnten bei 46 von 113 (41 %) Patienten erhöhte AP-Werte feststellen, fanden aber bei 78 % (78 von 100 Patienten) erhöhte CgA-Werte (Cutoff-Level: AP < 127 U/l; CgA < 39 ng/ml) [42].

Nach unseren Ergebnissen finden sich bei Patienten mit einem Pankreas-NET öfters erhöhte AP-Werte, als bei Midgut-NET-Patienten. Außerdem sind die Werte der AP bei Patienten mit ausgeprägter hepatischer Metastasierung höher als bei Patienten ohne Lebermetastasen. Die wahrscheinlichste Ursache für die höheren AP-Werte bei Pankreas-NET-Patienten könnte die Kompression oder Infiltration des Gallengangs durch den Pankreastumor sein. Auch wenn erhöhte AP-Werte ein negativer Prognosefaktor sein könnten, kann die AP aufgrund ihrer niedrigen Sensitivität das CgA als Tumormarker nicht ersetzen.

4.3 5-Hydroxy-Indolessigsäure (5-HIES)

Janson et al. berichten in einer univariaten Studie von einer signifikanten Assoziation erhöhter 5-HIES-Werte und einer kürzeren Überlebenszeit von NET-Patienten [34]. Korse et al. dagegen konnten mittels der Cox-Regressionsanalyse keine signifikante Korrelation zwischen 5-HIES-Werten und der Überlebenszeit finden. Sie fanden außerdem keine signifikante Korrelationen für 5-HIES-Werte, physiologische Funktionsbeeinträchtigung und dem subjektiven Gesundheitsempfinden der Patienten [36].

Dafür entdeckten Korse et al. mit Hilfe der Cox-Regressionsanalyse eine signifikante Korrelation zwischen den erhobenen CgA-Werten und der Überlebenszeit ($p = 0,02$), physiologischer Funktionsbeeinträchtigung ($p = 0,01$) und der subjektiven Lebensqualität der Patienten ($p = 0,03$) [36].

Wir überprüften nun die Sensitivität für 5-HIES bei Midgut-NET-Patienten und verglichen diese mit der Sensitivität für CgA dieser Patientengruppe. Mit unseren Daten erreichten wir nahezu die gleichen Werte für die 5-HIES- bzw. CgA-Sensitivität (69 % bzw. 68 %) bei Midgut-NET-Patienten. In der Untergruppe der Midgut-NET-Patienten mit Lebermetastasen konnten wir sogar eine höhere Sensitivität für 5-HIES (86 %) als für CgA (77 %) finden. Wie erwartet zeigte sich in der Subgruppe der Midgut-NET-Patienten ohne Lebermetastasen bei keinem Patienten (0/11) erhöhte 5-HIES-Werte. Dies ist darauf zurückzuführen, dass eine hepatische Metastasierung notwendig ist um den first-pass-Effekt der 5-HIES abzuschwächen.

Darüber hinaus konnten wir eine signifikante Korrelation zwischen den medianen 5-HIES- und den medianen CgA-Werten bei Midgut-NET-Patienten finden, was mit den Ergebnissen von Nobels et al. übereinstimmt [21].

Ziel dieser Arbeit war es, die Sensitivität des Tumormarkers Chromogranin A (CgA) für neuroendokrine Tumoren (NETs) des gastroenteropankreatischen Systems (GEP) bei dem von uns verwendeten Assay zur Bestimmung von CgA zu berechnen und mit Daten anderer Zentren zu vergleichen.

Hierfür analysierten wir die CgA-Serumwerte von 110 Patienten mit neuroendokrinen Tumoren (Midgut-NET n=62, Pankreas-NET n=48) in einer retrospektiven Studie mit den Daten unserer Klinik. Die CgA-Werte wurden durch einen kommerziell verfügbaren immunoradiometrischen Assay (IRMA, CIS-bio) bei Patienten der Medizinischen Klinik II, Campus Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München, in den Jahren von 2000 – 2009 (Cutoff-Level: CgA < 98 ng/ml) bestimmt.

In der gesamten Studienpopulation lag die CgA-Sensitivität für Patienten mit einem Midgut-NET höher als bei Patienten mit einem Pankreas-NET (68 % bzw. 54 %). Für beide Gruppen (Midgut- und Pankreas-NETs) konnte bei Patienten mit Lebermetastasen eine höhere CgA-Sensitivität als bei Patienten ohne Lebermetastasen nachgewiesen werden (Midgut: 77 % versus 40 %; Pankreas 63 % versus 31 %). Es zeigten sich außerdem signifikant höhere mediane CgA-Werte bei Patienten mit Lebermetastasen (n = 82; Median \pm Standardabweichung: 389 \pm 38103 ng/ml) als bei den Patienten ohne hepatische Metastasierung (n = 28; Median \pm Standardabweichung: 65 \pm 181 ng/ml) (p < 0,0001). Bei Patienten, die neben den Lebermetastasen noch weitere Metastasenherde (Knochen, Peritoneum oder Lunge) aufwiesen, zeigten sich sogar noch deutlich höhere CgA-Werte (n = 29; Median \pm Standardabweichung: 1011 \pm 63224 ng/ml) als bei Patienten die neben den Leberherden nur noch Lymphknotenbefall aufwiesen (n = 53; Median \pm Standardabweichung: 196 \pm 4427 ng/ml) (p = 0,005).

Wir evaluierten außerdem die Sensitivität für 5-Hydroxy-Indolessigsäure, gemessen im 24-Stundensammelurin bei 51 Midgut-NET-Patienten und konnten hier eine Gesamtsensitivität von 69 % nachweisen. In der Untergruppe der Patienten mit hepatisch metastasiertem Midgut-NETs zeigte sich eine deutlich höhere Sensitivität

von 87,5 %. Außerdem konnten wir eine signifikante Korrelation zwischen den medianen CgA- und 5-HIES-Werten nachweisen ($r = 0,752$; $p < 0,0001$).

Die alkalische Phosphatase (AP) zeigte nur eine niedrige Sensitivität für Pankreas- und Midgut-NETs von 42 % bzw. 26 %. Eine etwas höhere Sensitivität von 49 % bzw. 32 % konnte für die Untergruppe der hepatisch metastasierten Pankreas- und Midgut-NETs nachgewiesen werden. Zwischen den CgA- und AP-Werten konnte weder für die Pankreas-NET-Gruppe ($r = 0,362$) noch für die Midgut-NET-Gruppe ($r = 0,208$) eine signifikante Korrelation gefunden werden. Nach unseren Ergebnissen sowie den Ergebnissen bestehender Literatur hängt die CgA-Sensitivität von dem zur Messung verwendeten Assay, dem verwendeten Cutoff-Level, der Lokalisation des Tumorprimarius sowie von der Tumorlast ab. Chromogranin A scheint aufgrund der geringen Sensitivität im nicht metastasierten Stadium nicht zur primären Tumorsuche bzw. zum Screening geeignet, sondern sollte primär bei Patienten mit bereits bekanntem neuroendokrinen Tumor zur Tumornachsorge bzw. Verlaufskontrolle eingesetzt werden.

6

Literaturverzeichnis

1. Arnold, C., *[Neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract]*. Praxis (Bern 1994), 2007. **96**(1-2): p. 19-28.
2. Reznick, R.H., *CT/MRI of neuroendocrine tumours*. Cancer Imaging, 2006. **6**: p. S163-77.
3. Yao, J.C., et al., *One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States*. J Clin Oncol, 2008. **26**(18): p. 3063-72.
4. Lombard-Bohas, C., et al., *Thirteen-month registration of patients with gastroenteropancreatic endocrine tumours in France*. Neuroendocrinology, 2009. **89**(2): p. 217-22.
5. Pape, U.F., et al., *Prognostic factors of long-term outcome in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours*. Endocr Relat Cancer, 2008. **15**(4): p. 1083-97.
6. Ploekinger, U., et al., *The German NET-Registry: An Audit on the Diagnosis and Therapy of Neuroendocrine Tumors*. Neuroendocrinology, 2009.
7. Kinova, S., et al., *[Occurrence of carcinoid syndrome in patients with carcinoid tumors]*. Vnitr Lek, 2004. **50**(2): p. 126-33.
8. Solcia, E., G. Klöppel, and L.H. Sobin, *Histological typing of endocrine tumours*. International histological classification of tumours. Vol. 2nd Edition. 2000, Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
9. Kulke, M.H. and R.J. Mayer, *Carcinoid tumors*. N Engl J Med, 1999. **340**(11): p. 858-68.
10. Tiling, N., R. J., and B. Wiedenmann, *Neuroendokrine Tumoren des gastroenteropankreatischen Systems (GEP-NET). Klassifikation und Diagnostik*. Der Internist, 2002. **43**(2): p. 210-218.

11. Ricke, J. and K.J. Klose, *Imaging procedures in neuroendocrine tumours*. Digestion, 2000. **62 Suppl 1**: p. 39-44.
12. Kann, P.H., *[Endoscopic ultrasound imaging in neuroendocrine pancreatic tumors. A critical analysis]*. Med Klin (Munich), 2006. **101**(7): p. 546-51.
13. Memon, M.A. and H. Nelson, *Gastrointestinal carcinoid tumors: current management strategies*. Dis Colon Rectum, 1997. **40**(9): p. 1101-18.
14. Arnold, R., et al., *Somatostatin analogue octreotide and inhibition of tumour growth in metastatic endocrine gastroenteropancreatic tumours*. Gut, 1996. **38**(3): p. 430-8.
15. Rindi, G., C. Capella, and E. Solcia, *Cell biology, clinicopathological profile, and classification of gastro-enteropancreatic endocrine tumors*. J Mol Med, 1998. **76**(6): p. 413-20.
16. Rindi, G., V. Villanacci, and A. Ubiali, *Biological and molecular aspects of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors*. Digestion, 2000. **62 Suppl 1**: p. 19-26.
17. Mignon, M., *Natural history of neuroendocrine enteropancreatic tumors*. Digestion, 2000. **62 Suppl 1**: p. 51-8.
18. Deftos, L.J., *Chromogranin A: its role in endocrine function and as an endocrine and neuroendocrine tumor marker*. Endocr Rev, 1991. **12**(2): p. 181-7.
19. Taupenot, L., K.L. Harper, and D.T. O'Connor, *The chromogranin-secretogranin family*. N Engl J Med, 2003. **348**(12): p. 1134-49.
20. Modlin, I.M., et al., *Chromogranin A-Biological Function and Clinical Utility in Neuro Endocrine Tumor Disease*. Ann Surg Oncol, 2010.
21. Nobels, F.R., et al., *Chromogranin A as serum marker for neuroendocrine neoplasia: comparison with neuron-specific enolase and the alpha-subunit of glycoprotein hormones*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(8): p. 2622-8.

22. Nobels, F.R., et al., *Chromogranin A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumours*. Eur J Clin Invest, 1998. **28**(6): p. 431-40.
23. O'Connor, D.T. and L.J. Deftos, *Secretion of chromogranin A by peptide-producing endocrine neoplasms*. N Engl J Med, 1986. **314**(18): p. 1145-51.
24. Sobol, R.E., V. Memoli, and L.J. Deftos, *Hormone-negative, chromogranin A-positive endocrine tumors*. N Engl J Med, 1989. **320**(7): p. 444-7.
25. Eriksson, B., K. Oberg, and M. Stridsberg, *Tumor markers in neuroendocrine tumors*. Digestion, 2000. **62 Suppl 1**: p. 33-8.
26. Oberg, K., *The ultimate biochemical diagnosis of gastro-enteropancreatic tumours*. Digestion, 1996. **57 Suppl 1**: p. 45-7.
27. Ferrari, L., et al., *Accuracy and clinical correlates of two different methods for chromogranin A assay in neuroendocrine tumors*. Int J Biol Markers, 2004. **19**(4): p. 295-304.
28. Stridsberg, M., et al., *A comparison between three commercial kits for chromogranin A measurements*. J Endocrinol, 2003. **177**(2): p. 337-41.
29. Zatelli, M.C., et al., *Chromogranin A as a marker of neuroendocrine neoplasia: an Italian Multicenter Study*. Endocr Relat Cancer, 2007. **14**(2): p. 473-82.
30. Baudin, E., et al., *Impact of chromogranin A measurement in the work-up of neuroendocrine tumors*. Ann Oncol, 2001. **12 Suppl 2**: p. S79-82.
31. Schurmann, G., et al., *Serum chromogranin A in the diagnosis and follow-up of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic tract*. World J Surg, 1992. **16**(4): p. 697-701; discussion 701-2.
32. Nikou, G.C., et al., *Chromogranin a levels in diagnosis, treatment and follow-up of 42 patients with non-functioning pancreatic endocrine tumours*. Pancreatology, 2008. **8**(4-5): p. 510-9.
33. Tomassetti, P., et al., *Diagnostic value of plasma chromogranin A in neuroendocrine tumours*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2001. **13**(1): p. 55-8.

34. Janson, E.T., et al., *Carcinoid tumors: analysis of prognostic factors and survival in 301 patients from a referral center*. Ann Oncol, 1997. **8**(7): p. 685-90.
35. Kolby, L., et al., *Chromogranin A as a determinant of midgut carcinoid tumour volume*. Regul Pept, 2004. **120**(1-3): p. 269-73.
36. Korse, C.M., et al., *Chromogranin A as an alternative to 5-hydroxyindoleacetic acid in the evaluation of symptoms during treatment of patients with neuroendocrine Tumors*. Neuroendocrinology, 2009. **89**(3): p. 296-301.
37. Arnold, R., et al., *Plasma chromogranin A as marker for survival in patients with metastatic endocrine gastroenteropancreatic tumors*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2008. **6**(7): p. 820-7.
38. Pirker, R.A., et al., *Usefulness of chromogranin A as a marker for detection of relapses of carcinoid tumours*. Clin Chem Lab Med, 1998. **36**(11): p. 837-40.
39. Welin, S., et al., *Elevated plasma chromogranin A is the first indication of recurrence in radically operated midgut carcinoid tumors*. Neuroendocrinology, 2009. **89**(3): p. 302-7.
40. Sanduleanu, S., et al., *Serum gastrin and chromogranin A during medium- and long-term acid suppressive therapy: a case-control study*. Aliment Pharmacol Ther, 1999. **13**(2): p. 145-53.
41. Borch, K., et al., *Basal chromogranin A and gastrin concentrations in circulation correlate to endocrine cell proliferation in type-A gastritis*. Scand J Gastroenterol, 1997. **32**(3): p. 198-202.
42. Clancy, T.E., et al., *Alkaline phosphatase predicts survival in patients with metastatic neuroendocrine tumors*. Dig Dis Sci, 2006. **51**(5): p. 877-84.
43. Bland, J.M. and D.G. Altman, *Calculating correlation coefficients with repeated observations: Part 1--Correlation within subjects*. BMJ, 1995. **310**(6977): p. 446.
44. Goebel, S.U., et al., *Prospective study of the value of serum chromogranin A or serum gastrin levels in the assessment of the presence, extent, or growth of gastrinomas*. Cancer, 1999. **85**(7): p. 1470-83.

7 **Anhang**

7.1 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Christoph J. Auernhammer für die freundliche Aufnahme, Betreuung und Unterstützung während der gesamten Bearbeitungszeit dieser Arbeit.

Mein Dank gilt außerdem der gesamten Arbeitsgruppe meines Doktorvaters aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II, LMU München, Campus Großhadern unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Burkhard Göke für die mir zuteil gewordene Unterstützung.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Frau Dr. med. Svenja Nölting für die gute Zusammenarbeit bei der Ausarbeitung des Manuskriptes und bei Herrn Dipl.-Stat. Michael Lauseker Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie der LMU München für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der erhobenen Daten.

Ein herzliches Dankeschön geht auch an meine Frau, für Ihre Geduld und Unterstützung in der Zeit meines Studium und der Dissertation.

Zu guter Letzt gilt mein Dank in besonderem Maße meinen Eltern, die mir den Weg bis hierher überhaupt erst ermöglicht haben.